

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

LUCIANE BOCKOR

AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE TAMPONANTE DE ALIMENTOS PARA ANIMAIS

CURITIBA
2009

LUCIANE BOCKOR

AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE TAMPONANTE DE ALIMENTOS PARA ANIMAIS

Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Ciências Veterinárias, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná

Orientador: Prof. Dr. Marson Bruck Warpechowski

CURITIBA
2009


PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS




PARECER

A Comissão Examinadora da Defesa da Dissertação intitulada **"AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE TAMPONANTE DE ALIMENTOS PARA ANIMAIS"** apresentada pela Mestranda LUCIANE BOCKOR, declara ante os méritos demonstrados pela Candidata, e de acordo com o Art. 78 da Resolução nº 62/03-CEPE/UFPR, que considerou a candidata Apto para receber o Título de Mestre em Ciências Veterinárias, na Área de Concentração em Produção Animal.

Curitiba, 20 de fevereiro de 2009.


Prof. Dr. Marson Bruck Warpechowski
Presidente/Orientador


Prof. Dr. Fabiano Dahlke

Membro


Prof. Dr. Martin Gierus

Membro

DEDICATÓRIA

A meus pais Mario e Lúcia. Vocês que sempre compartilharam meus sonhos e desalentos, vitórias e derrotas, alegrias e tristezas, incentivando-me a prosseguir a jornada, fossem quais fossem os obstáculos. Dedico este trabalho com a mais profunda gratidão e respeito.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida.

A você, Carlos, pelo carinho, paciência, amor, apoio e compreensão nesses dois anos de mestrado.

Ao meu irmão, Paulo, pela presença e apoio.

Ao meu orientador, professor Marson Bruck Warpechowski, e aos meus co-orientadores Alex Maiorka e Fabiano Dahlke, pela oportunidade e pela ajuda na execução deste trabalho, sempre com muita atenção e dedicação.

Aos demais professores do Curso de Pós Graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Federal do Paraná, pelos ensinamentos e disposição em sempre ajudar.

A todos os colegas de mestrado, que dividiram comigo suas experiências nestes dois anos. Em especial, aqueles com quem tive um maior convívio e que me ajudaram na execução deste projeto: Juahil, Vanessa, Patricia, Rosana e Elaine.

A todos os estagiários que me auxiliaram na execução deste projeto, compartilharam comigo cada dificuldade, e me ajudaram a vencê-las.

Aos amigos que fiz durante esta trajetória, Tatiane, Jaime, Bárbara, Ananda, André, Fabiane, Vanessa, Juahil, Franciely.

Em especial ao Laboratório de Nutrição Animal da UFPR, pelo auxílio nas análises realizadas, pelo carinho, atenção e paciência de todos os funcionários que lá trabalham.

Aos demais auxílios recebidos para execução deste trabalho: Luis Bisewski da Agropecuária Santa Mônica, professor José Luciano Andriguetto da Nuvital, senhor Ismael da fábrica de rações da Fazenda Canguiri, pelos ingredientes fornecidos para os experimentos.

À CAPES, pelos meses que recebi bolsa de estudos durante o mestrado.

“Não basta ter belos sonhos para realizá-los. Mas ninguém realiza grandes obras se não for capaz de sonhar grande. Podemos mudar o nosso destino, se nos dedicarmos a luta pela realização de nossos ideais. É preciso sonhar, mas com a condição de crer em nosso sonho, de examinar com atenção a vida real; de confrontar nossa observação com o nosso sonho; de realizar escrupulosamente nossa fantasia. Sonhos, acredite neles.”

(Lenin)

RESUMO

Foram avaliadas diferentes medidas de capacidade tamponante (CT) de alimentos para animais. No experimento apresentado no Capítulo 02 foram utilizadas 32 amostras de diferentes ingredientes, pré-misturas e dietas utilizados para leitões. Estes ingredientes foram classificados como aminoácidos, suplementos minerais, cereais e subprodutos, soja e subprodutos, ingredientes de origem animal e dietas completas. Avaliou-se a CT destes ingredientes por meio das medidas: pH inicial (pHi), acidez ou alcalinidade tituláveis (AT) e CT. O pHi foi mensurado em 3 soluções com 10 g de amostra diluídas em 90 ml de água destilada e deionizada, onde adicionou-se ou ácido clorídrico, ou ácido fórmico ou um acidificante comercial a base de ácido fórmico, para reduzir o pH até 5,0, ou NaOH, quando o pHi foi menor que 5,0. A AT foi definida como a quantidade de ácido ou base necessária para alterar o pH entre o pHi e 5,0, expresso em mEq/100 g de matéria seca de amostra. A CT foi calculada dividindo-se os valores de AT pelo intervalo de pH considerado. Os resultados das medidas foram submetidas a ANOVA considerando as classes, e a correlação entre o pHi e a CT foi avaliada. A CT demonstrou ser mais sensível que a AT, e o pHi não obteve correlação consistente com a CT. No experimento seguinte, apresentado no Capítulo 03, utilizou-se 46 ingredientes e 7 misturas, classificados como ácidos, aminoácidos, suplementos vitamínicos e minerais, ingredientes de origem vegetal, ingredientes de origem animal e suas misturas. Avaliou-se um método de linearização de curvas de titulação para determinação da CT de alimentos para animais. O pHi foi determinado em todas as amostras e as curvas de titulação obtidas do pH 8,0 ao 2,0. A AT foi determinada de 2 formas: como a quantidade de HCl necessária para redução do pHi até 2,0 (AT_pHi), e como a quantidade de HCl necessária para reduzir o pH do 8,0 ao 2,0, denominada acidez titulável padrão (ATp). A CT foi obtida dividindo os valores de ATp pelo intervalo de pH de 8,0 ao 2,0. A medida linearizada da CT, taxa linear de tamponamento (TLT), foi obtida transformando os dados de pH por meio da função $Y=EXP(1/pH)$ e a TLT foi calculada como o inverso da inclinação da regressão linear entre a medida transformada de pH e a quantidade de ácido adicionada. O método de linearização mostrou-se adequado para as curvas de titulação dos materiais avaliados, e a TLT foi a medida que apresentou maior aditividade. No Capítulo 04 avaliou-se a repetibilidade e a sensibilidade da TLT, descrevendo também os valores desta medida para os mesmos ingredientes e misturas analisados no Capítulo 03. Além disso, foram determinados pHi, AT_pHi, ATp e CT de acordo com capítulo anterior. Os resultados foram submetidos a ANOVA considerando as classificações, e as médias foram comparadas pelo teste de S-N-K a 5% de significância. A TLT não modificou a ordem de classificação das classes de ingredientes quando comparada a CT. Dentre todas as medidas avaliadas, a ATp e a TLT demonstraram maior sensibilidade. Com exceção do pHi, as demais medidas apresentaram alta amplitude entre replicatas laboratoriais para cada material e para as classes formadas.

Palavras-chave: alimentos, capacidade tamponante, curvas de titulação, linearização, pH.

ABSTRACT

Different buffering capacity (BC) measures were evaluated in feeds for animals. In the experiment showed in the second chapter were used 32 samples of different ingredients, mineral supplement mix and diets used for pigs. These ingredients were classified as amino acids, mineral supplements, cereals and its raw products, soybean and its raw products, animal products and complete diets. Buffering capacity of these ingredients was evaluated by different ways: initial pH (pHi), titratable acidity or alkalinity (AT) and BC. The pHi was measured in three solutions with 10 g sample diluted in 90 ml distilled deionized water, in witch one, or chloridric acid, or formic acid or a commercial acidifier based in formic acid, were used to reduce the pH just to 5.0, or NaOH when the pHi was lower than 5.0. AT was defined as the overall acid or alkali amount required to change the pH between the pHi and 5.0, and was expressed as mEq/100 g sample dry matter. BC was so calculated by dividing the AT values by the role pH range. Results of each measure were submitted to an ANOVA considering the classifications, and the linear correlation between the pHi and BC was also evaluated. BC showed higher sensibility than AT, and the pHi didn't obtain consistent correlation with BC. In the next experiment, presented in chapter three, 46 ingredients and 7 mixes were used, classified as acids, amino acids, vitamin and mineral supplements, vegetable ingredients, animal ingredients and their mixes. A method for linearization of titration curves to determine the BC of feeds for animals was evaluated. The pHi was determined in all the samples and the titration curves obtained from pH 8.0 to 2.0. The AT was determined in two ways: as the amount of HCl required to reduce the pHi to 2.0 (AT_pHi), and the amount of HCl required to reduce pH from 8.0 to 2.0, called standard titratable acidity (STA). BC was obtained dividing the STA values by pH range from 8.0 to 2.0. The BC linearized measure, linear buffering ratio (LBR), was determined transforming the data of pH through the function $Y=EXP(1/pH)$ and LBR was calculated as the inverse of the slope in the linear regression between the transformed measure of pH and the amount added of acid. The linearization method has proved to be suitable to fit the titration curves of the evaluated materials, and LBR was the measure with higher additivity. In the chapter four, the LBR repeatability and sensitivity was evaluated, describing also the values of this measure for the ingredients and mixes analysed in the chapter three. The results were submitted to ANOVA considering the classifications, and the averages were compared by S-N-K test at 5% of significance. The TLT didn't change the classification order of the ingredients classes when compared to BC. Among all measures evaluated, the STA and LBR showed greater sensitivity. Excepting pHi, all the other measures showed high range between laboratory replicates for each material and the classes formed.

Key words: buffering capacity, feeds, linearization, pH, titration curves.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 2.1 - CORRELAÇÃO ENTRE O pH INICIAL E CAPACIDADE TAMPONANTE12

FIGURA 3.1 - CURVAS DE TITULAÇÃO DE ALGUNS INGREDIENTES DETERMINADAS DO PH 8,0 AO 2,0 (a), CURVAS LINEARIZADAS DAS CLASSES DOS ÁCIDOS (b), AMINOÁCIDOS (c), SUPLEMENTOS VITAMÍNICOS E MINERAIS (d), INGREDIENTES DE ORIGEM VEGETAL (e), INGREDIENTES DE ORIGEM ANIMAL (f) , E MISTURAS (g)23

LISTA DE QUADROS

QUADRO 2.1 - INGREDIENTES E CLASSIFICAÇÃO UTILIZADA.....	7
QUADRO 2.2 - COMPOSIÇÃO DAS MISTURAS VITAMÍNICAS E MINERAIS E DAS DIETAS ANALISADAS.....	8
QUADRO 3.1 - CLASSES FORMADAS E INGREDIENTES QUE AS COMPÕE.....	20
QUADRO 3.2 - COMPOSIÇÕES DOS PREMIX MINERAL, VITAMÍNICO E VITAMÍ - NICO E MINERAL.....	21

LISTA DE TABELAS

TABELA 2.1 - MATERIAL, NÚMERO DE AMOSTRAS DE CADA MATERIAL (N) E VALORES MÉDIOS E DESVIO PADRÃO DE pH INICIAL (pHi), ACIDEZ OU ALCALINIDADE TITULÁVEIS (AT) E CAPACIDADE TAMPONANTE (CT).....	10
TABELA 2.2 - VALORES MÉDIOS E DESVIO PADRÃO DE pH INICIAL (pHi), ACIDEZ OU ALCALINIDADE TITULÁVEIS (AT) E CAPACIDADE TAMPONANTE (CT) PARA AS CLASSES DE INGREDIENTES E DIETAS ANALISADOS.....	11
TABELA 3.1 - VALORES MÉDIOS DO COEFICIENTE DE DETERMINAÇÃO AJUSTADO (r^2) E DO ERRO PADRÃO RESIDUAL (EPR) DAS REGRESSÕES LINEARES AJUSTADAS ÀS CURVAS DE TITULAÇÃO PARA AS CLASSES DE INGREDIENTES E MISTURAS ANALISADOS.....	22
TABELA 3.2 - VALORES MÉDIOS MEDIDOS E CALCULADOS DA ACIDEZ TITULÁVEL DETERMINADA A PARTIR DO pH INICIAL (AT_pHi) E ACIDEZ TITULÁVEL PADRÃO (ATp), DIFERENÇA ENTRE OS VALORES MEDIDOS E CALCULADOS EXPRESSA EM % DO VALOR MEDIDO, DESVIO PADRÃO (DP) DA DIFERENÇA, COEFICIENTE DE REGRESSÃO (b) E COEFICIENTE DE DETERMINAÇÃO (r^2) DAS MISTURAS ANALISADAS.....	27
TABELA 3.3 - VALORES MÉDIOS MEDIDOS E CALCULADOS DA CAPACIDADE TAMPONANTE (CT) E DA TAXA LINEAR DE TAMPONAMENTO (TLT), DIFERENÇA ENTRE OS VALORES MEDIDOS E CALCULADOS EXPRESSA EM % DO VALOR MEDIDO, DESVIO PADRÃO (DP) DA DIFERENÇA, COEFICIENTE DE REGRESSÃO (b) E COEFICIENTE DE DETERMINAÇÃO (r^2) DAS MISTURAS ANALISADAS.....	27
TABELA 4.1 - MATERIAL, NÚMERO DE AMOSTRAS DE CADA MATERIAL (N) E VALORES MÉDIOS E DESVIO PADRÃO DE pH INICIAL (pHi), ACIDEZ TITULÁVEL DETERMINADA A PARTIR DO pH INICIAL (AT_pHi) E ACIDEZ TITULÁVEL PADRÃO (ATp) DETERMINADA A PARTIR DO pH 8,0.....	36
TABELA 4.2 - MATERIAL, NÚMERO DE AMOSTRAS DE CADA MATERIAL (N) E VALORES MÉDIOS E DESVIO PADRÃO DA CAPACIDADE TAMPONANTE (CT) E DA TAXA LINEAR DE TAMPONAMENTO (TLT).....	37
TABELA 4.3 - MATERIAL, NÚMERO DE AMOSTRAS (N), NÚMERO DE REPLICATAS LABORATORIAIS (R), VALOR MÉDIO DE	

AMPLITUDE DE CADA MATERIAL (%) E AMPLITUDE MÉDIA (%) PARA AS MEDIDAS, pH INICIAL (pHi), ACIDEZ TITULÁVEL DETERMINADA A PARTIR DO pH INICIAL (AT_pHi), ACIDEZ TITULÁVEL PADRÃO (ATp), CAPACIDADE TAMPONANTE (CT) E TAXA LINEAR DE TAMPONAMENTO (TLT)38

TABELA 4.4 - VALORES MÉDIOS DAS MEDIDAS pH INICIAL (pHi), ACIDEZ TITULÁVEL DETERMINADA A PARTIR DO pH INICIAL (AT_pHi) E ACIDEZ TITULÁVEL PADRÃO (ATp), E AMPLITUDE (AM) DESTAS MEDIDAS, PARA AS CLASSES ANALISADAS.....42

TABELA 4.5 - VALORES MÉDIOS DAS MEDIDAS CAPACIDADE TAMPONANTE (CT) E TAXA LINEAR DE TAMPONAMENTO (TLT) E AMPLITUDE (AM) DESTAS MEDIDAS, PARA AS CLASSES ANALISADAS.....42

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AT – Acidez Titulável

AT_pHi – Acidez Titulável determinada a partir do pH inicial

ATp – Acidez Titulável Padrão, determinada a partir do pH 8,0

CT – Capacidade Tamponante

FDN – Fibra em Detergente Neutro

MS – Matéria Seca

pH – Potencial de Hidrogênio

pHi – pH Inicial

TLT – Taxa Linear de Tamponamento

SUMÁRIO

CAPÍTULO 01 – INTRODUÇÃO GERAL.....	1
CAPÍTULO 02 - COMPARAÇÃO DE MEDIDAS DA CAPACIDADE TAMPONANTE DE MATÉRIAS-PRIMAS E DIETAS UTILIZADAS PARA LEITÕES	
RESUMO.....	4
2.1. INTRODUÇÃO.....	6
2.2. MATERIAL E MÉTODOS.....	7
2.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	9
2.4. CONCLUSÕES.....	13
2.5. REFERÊNCIAS.....	14
CAPÍTULO 03 - AVALIAÇÃO DE MÉTODO DE LINEARIZAÇÃO DE CURVAS DE TITULAÇÃO PARA DETERMINAÇÃO DA CAPACIDADE TAMPONANTE DE ALIMENTOS PARA ANIMAIS	
RESUMO.....	16
3.1. INTRODUÇÃO.....	18
3.2. MATERIAL E MÉTODOS.....	19
3.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	22
3.4. CONCLUSÕES.....	29
3.5. REFERÊNCIAS.....	30
CAPÍTULO 04 - AVALIAÇÃO DA TAXA LINEAR DE TAMPONAMENTO PARA INGREDIENTES DE DIETAS ANIMAIS	
RESUMO.....	32
4.1. INTRODUÇÃO.....	34
4.2. MATERIAL E MÉTODOS.....	35
4.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	36
4.4. CONCLUSÕES.....	45
4.5. REFERÊNCIAS.....	46
CAPÍTULO 05 – CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	48

1. INTRODUÇÃO GERAL

O fornecimento adequado de nutrientes para os animais contribui, de forma significativa, para o aumento da produtividade. Assim, a otimização da eficiência nutricional é fundamental para ampliar a produtividade e reduzir o custo de produção. A ótima composição das rações é normalmente determinada com base em níveis de energia, proteína, minerais e aminoácidos. Outros fatores como amido, fibra, vitaminas, também devem ser considerados. Entretanto, propriedades físico-químicas dos alimentos, como a capacidade tamponante, muitas vezes não é levada em conta na formulação.

A capacidade tamponante é uma propriedade físico-química dos alimentos que tem influência na oscilação do pH durante os processos nutricionais no trato digestório. Esta propriedade mostra-se muito relevante para leitões desmamados, por exemplo, que possuem um sistema digestório imaturo, com limitada capacidade de produção de HCl. Até a fase da desmama, a acidificação estomacal ocorre primordialmente pela produção de ácido láctico a partir da fermentação da lactose do leite ingerido, sendo que altos níveis de lactose no estômago inibem a secreção de HCl. A neutralização devido ao efeito tamponante dos alimentos pode diminuir a ativação das enzimas gástricas, prejudicando a digestão. Assim também a capacidade tamponante pode afetar ruminantes, alterando as condições ruminais pelo aumento de pH ou aumento da resistência do fluido ruminal à trocas de pH.

Conceitualmente, a capacidade tamponante é a habilidade de uma solução resistir à troca de pH. Em nutrição animal, esta propriedade físico-química tem sido definida como a habilidade de um alimento em suspensão aquosa em resistir à mudança de pH decorrente da adição de uma solução ácida ou básica. Entretanto a medida capacidade tamponante de alimentos para animais, é um tema ainda pouco abordado por pesquisadores e nutricionistas. É uma propriedade física que deve ser levada em consideração quando se formula uma dieta, visto que pode alterar características e funções gastrintestinais dos animais. Deve também ser destacada quando do uso de ácidos orgânicos nas dietas, pois esta pode afetar a ação dos mesmos.

Diversos métodos são utilizados para a determinação desta medida, não existindo, porém, um método padrão, nem um consenso entre os pesquisadores do qual é o mais adequado. As curvas de titulação para determinação da capacidade tamponante não apresentam um comportamento linear, tornando a medida não aditiva, ou seja, não sendo possível estimar com precisão a capacidade tamponante de dietas a partir da capacidade tamponante de seus ingredientes.

Desta forma justifica-se a necessidade de maiores estudos sobre a capacidade tamponante dos ingredientes utilizados para animais, sua forma de mensuração e como ela pode se tornar uma ferramenta útil na formulação de dietas.

No presente trabalho, ingredientes, dietas e misturas utilizadas em dietas animais foram avaliados por meio de diferentes medidas da capacidade tamponante. No Capítulo 02 avaliou-se a capacidade tamponante de ingredientes e dietas para leitões, fazendo uso de três medidas normalmente utilizadas na avaliação da capacidade tamponante: pH inicial, acidez ou alcalinidade tituláveis e capacidade tamponante. O Capítulo 03 apresenta um método de linearização de curvas de titulação para determinação da capacidade tamponante de ingredientes de dietas animais, buscando tornar a medida mais aditiva. No Capítulo 04 avaliou-se a repetibilidade e a sensibilidade da medida linearizada da capacidade tamponante, denominada taxa linear de tamponamento (TLT), além de descrever a TLT para os ingredientes e misturas utilizados na alimentação animal.

2. COMPARAÇÃO DE MEDIDAS DA CAPACIDADE TAMPONANTE DE MATÉRIAS-PRIMAS E DIETAS UTILIZADAS PARA LEITÕES

Este Capítulo é apresentado de acordo com as normas para publicação na Revista **Archives of Veterinary Science**.

Artigo publicado na revista **Archives of Veterinary Science**, v.12, n.3, p.71-76, 2007.

2. COMPARAÇÃO DE MEDIDAS DA CAPACIDADE TAMPONANTE DE MATÉRIAS-PRIMAS E DIETAS UTILIZADAS PARA LEITÕES

RESUMO: Avaliou-se a capacidade tamponante (CT) de diferentes ingredientes e dietas para leitões, por meio de diferentes medidas: pH inicial (pHi), acidez ou alcalinidade tituláveis (AT) e CT. Foram utilizadas 32 amostras de diferentes ingredientes, pré-misturas e dietas, classificados como aminoácidos, suplementos minerais, cereais e subprodutos, soja e subprodutos, ingredientes de origem animal e dietas completas. O pHi foi mensurado em três soluções com 10 g de amostra diluídas em 90 ml de água destilada e deionizada, nas quais foi adicionado ou ácido clorídrico, ou ácido fórmico ou um acidificante comercial a base de ácido fórmico, para reduzir o pH até 5,0, ou NaOH, quando o pHi foi menor que 5,0. A AT foi definida como a quantidade de ácido ou base necessária para alterar o pH entre o pHi e 5,0, expresso em mEq/100 g de matéria seca de amostra. A CT foi calculada dividindo-se os valores de AT pelo intervalo de pH considerado, sendo os valores obtidos com cada ácido considerados replicatas de cada amostra. Os resultados com cada medida foram submetidos à ANOVA considerando as classificações. A correlação entre o pHi e a CT foi também avaliada. Os suplementos minerais e os aminoácidos apresentaram valores extremos em todas as medidas, e foram separados em subgrupos. As classes soja, cereais e dietas mostraram valores similares de pHi, mas diferiram quanto às outras medidas ($P < 0,05$). A CT demonstrou mais sensibilidade que a AT. O pHi apresentou correlação inconsistente com a CT, não sendo uma estimativa confiável desta propriedade físico-química.

Palavras-chave: acidez titulável, ácidos orgânicos, alcalinidade titulável, capacidade tamponante, ingredientes.

2. COMPARISON OF BUFFERING CAPACITY MEASURES ON FEEDSTUFFS AND DIETS FOR PIGLETS

ABSTRACT: Buffering capacity (BC) of several feeds and diets for pigs was evaluated by different ways: initial pH (pHi), titratable acidity or alkalinity (AT) and BC. Were used 32 samples of different ingredients, mineral supplement mix and diets, classified as amino acids, mineral supplements, cereals and its raw products, soybean and its raw products, animal products, and complete diets. PHi was measured in three solutions with 10 g sample diluted in 90 ml distilled deionized water, in with one or chloridric acid, or formic acid or a commercial acidifier based in formic acid, were used to reduce the pH just to 5.0, or NaOH, when the pHi was lower than 5.0. AT was defined as the overall acid or alkali amount required to change the pH between the pHi and 5.0, and was expressed as mEq/100 g sample dry matter. CT was so calculated by dividing the AT values by the whole pH range, with the values obtained with each acid source used as replicates of each sample. Results of each measure were submitted to an ANOVA considering the classifications. Linear correlation between the pHi and BC was also evaluated. Minerals and amino acids showed extreme higher and lower values in all measures and were divided in subgroups. Diets and products of soybean and cereal showed similar pHi values, but were different by the other measures ($P < 0,05$). CT showed higher sensibility than AT. PHi presented inconsistent correlation with BC, and was considered a not trustable estimate of that physicochemical property.

Key words: buffering capacity, organic acids, feedstuffs, titratable acidity, titratable alkalinity.

2.1 INTRODUÇÃO

A fase da desmama é caracterizada pela baixa habilidade dos leitões de secretarem quantidade de HCl capaz de baixar o pH gástrico e inibir a proliferação microbiana (RISLEY *et al.*, 1992). Até esta fase, a acidificação estomacal ocorre primordialmente pela produção de ácido láctico a partir da fermentação da lactose do leite ingerido, sendo que altos níveis de lactose no estômago inibem a secreção de HCl (LAWLOR *et al.*, 2005). De forma inversa, a ingestão de alimento sólido reduz a produção de ácido láctico no estômago e estimula a secreção de HCl. Porém, na prática, o consumo de alimento é baixo e variável à desmama. Assim, a combinação de baixa secreção de HCl e a ingestão variável de alimento, pode resultar em pH elevado, próximo a 5, podendo permanecer alto por vários dias (LAWLOR *et al.*, 2005). Além disso, a capacidade tamponante (CT) dos alimentos pode interferir no pH estomacal, aumentando a quantidade necessária de HCl para reduzir o pH (PENZ, 1991).

Segundo PENZ (1991), a utilização de ácidos orgânicos na dieta de leitões se justifica pela redução do pH estomacal, aumento na atividade de determinadas enzimas, melhora na digestibilidade de alguns nutrientes e a redução no crescimento de microorganismos. Porém PARTANEN *et al.* (2002) citam que a composição da dieta pode influenciar a eficácia dos ácidos orgânicos. Da mesma forma ROTH (2000) afirma que em condições de armazenamento inadequadas, o pH dos alimentos e sua CT diminuem a ação destes ácidos.

Conceitualmente a CT é a habilidade de uma solução resistir à troca de pH (BACAN *et al.*, 1979). Em nutrição animal, a CT tem sido definida como a habilidade em suspensão aquosa de um alimento em resistir à mudança de pH decorrente da adição de uma solução ácida ou básica (McBURNEY *et al.*, 1983; GABERT *et al.*, 1995; GIGER-REVERDIN *et al.*, 2002).

Diversos métodos têm sido adotados para medir a CT de alimentos para animais (McBURNEY *et al.*, 1983; GABERT *et al.*, 1995; VAN OOIJEN, 2000; GIGER-REVERDIN *et al.*, 2002; WARPECHOWSKI e CIOCCA, 2006; WARPECHOWSKI e SILVA, 2006; OLIVEIRA Jr. e WARPECHOWSKI, 2007). Porém, ainda não existe consenso sobre o método mais eficiente que possa ser utilizado como padrão para este tipo de mensuração.

VAN OOIJEN (2000) descreve como *b-value* a quantidade (mEq) de HCl 1,0 M necessário para acidificar um quilograma de alimento até o pH 4,0 ou 5,0. Segundo este autor, o método usualmente utilizado na avaliação de alimentos para suínos é realizado a partir da titulação até o pH 5,0 de 10 gramas de ingrediente suspenso em 90 ml de água destilada. De acordo com BACAN *et al.* (1979), a quantidade de ácido ou base necessária para alterar o pH de uma solução ou suspensão dentro de uma faixa de pH pré-determinada é chamada de acidez ou alcalinidade tituláveis (AT), e a CT é obtida dividindo-se a AT pelo intervalo total de pH considerado.

O objetivo deste trabalho foi avaliar diferentes medidas da CT de ingredientes e dietas para leitões.

2.2 MATERIAL E MÉTODOS

Foram coletadas em fábricas de ração, 32 amostras de ingredientes e dietas comumente utilizados para alimentação de suínos. As amostras foram moídas em moinho tipo WILEY MILL com peneira de 1 mm, e armazenadas em sala com controle de temperatura e umidade, por um período de até três meses. O material experimental foi agrupado em diferentes classes, como apresentado na Quadro 2.1.

QUADRO 2.1 - INGREDIENTES E CLASSIFICAÇÃO UTILIZADA.

<i>Classe</i>	<i>Ingredientes</i>
Soja e subprodutos	Farelo de soja (FS), soja integral (SI) e soja integral tostada (SIT).
Cereais e subprodutos	Milho moído, farelo de arroz integral (FA), farelo de arroz desengordurado (FAD) e quirera de arroz (QRA).
Ingredientes de origem animal	Farinha de penas (FP), farinha de vísceras (FV), farinha de carne (FC), plasma sanguíneo e soro de leite em pó (SLP).
Aminoácidos	Lisina (LIS), metionina (MET) e treonina (TRE).
Suplementos minerais	NaCl, fosfato bicálcico (FBC), mistura vitamínica e mineral pré-inicial (Premix1) e crescimento (Premix2).
Dietas	Dieta pré-inicial peletizada (DPP), Dieta crescimento peletizada (DCP) e o resíduo de biscoito (RSB) *.

*O ingrediente resíduo de biscoito foi incluído na classe dieta por ser um produto resultante da mistura de vários ingredientes.

A composição das dietas e misturas vitamínicas e minerais analisadas são apresentadas no Quadro 2.2. Para a determinação do pH inicial (pHi) e titulação utilizou-se a metodologia adotada por GABERT *et al* (1995), com as seguintes modificações: foram pesadas 10 g de amostra previamente moída (<1 mm) para a diluição em 90 g de água destilada e deionizada, e o pH foi mensurado com peagâmetro (pH 330:SET, WTW), sob agitação magnética constante, em temperatura ambiente. Quando o pHi foi superior a 5,0, adicionou-se gradativamente a solução ácida 0,1 N até atingir o pH 5,0, aceitando-se uma variação de +/- 0,05 unidades. A mistura foi mantida sob agitação por 15 min e, quando o pH da solução se alterou em mais de 0,1 unidades, a titulação foi continuada, até estabilização do pH. Com soluções de substrato que apresentaram pHi abaixo de 5,0, o mesmo procedimento foi realizado com solução de NaOH 0,1 N. Os ácidos utilizados foram o HCl, o ácido fórmico (CH₂O₂) e um acidificante comercial a base de ácido fórmico (98 % diformiato de potássio, 1,5% silicato, 0,5% água - FORMI®).

QUADRO 2.2 - COMPOSIÇÃO DAS MISTURAS VITAMÍNICAS E MINERAIS E DAS DIETAS ANALISADAS.

Mistura/Dieta	Composição
Mistura vitamínica e mineral para fase pré-inicial	Ácido fólico, 420 mg; ácido pantotênico, 7,350 mg; antioxidante, 1.500 mg; biotina, 16,56 mg; colina, 126 g; niacina, 13.650 mg; piridoxina, 700 mg; riboflavina, 2.100 mg; selênio, 136,5 mg; tiamina, 700 mg; vit. A, 2.800 UI; vit. B12, 11.550 mcg; vit. D3, 1.050 UI ; vit. E, 10.500 mg; vit. K3, 2.800 mg; zinco, 77.999 mg; cobre, 15.750 mg; manganês, 41.850 mg; cálcio, 98.800 mg; cobalto, 135mg; iodo, 1.470 mg; ferro, 26.250 mg (valores por kg de produto).
Mistura vitamínica e mineral para fase crescimento	Vit. A 8.333 UI; ácido nicotínico, 25.000 mg; selênio, 208,33 mg; vit. D3, 1.875 UI; ác. Pantotênico, 12.500,0 mg; iodo, 406,25 mg; vit. E, 33.333 UI; biotina, 104,17 mg; veículo q.s.p., 1.000,0 g; vit. K3, 1.250,0 mg; ácido fólico, 500,0 mg; vit. B1, 1.667,0 mg; ferro, 54.167,0 mg; vit. B2, 4.167,0 mg; cobre, 8.125,0 mg; vit. B6, 2.500,0 mg; zinco, 65.000,0 mg; vit. B12, 20,83 mg; manganês, 32.500,0 mg (valores por kg de produto).
Dieta pré-inicial peletizada	Milho, 40,9 %; farelo de soja, 33,5 %; soro de leite em pó, 10,0 %; lactose, 7,0 %; calcário, 0,52 %; fosfato bicálcico, 2,09 %; óleo de soja, 4,04 %; L-Lisina, 0,30 %; DL-Metionina, 0,15%; L-Treonina, 0,03 %; NaCl, 015%; promotor de crescimento, 0,50%; cloreto de colina (60%), 0,20%; mistura vitamínica e mineral, 0,60%; antioxidante, 0,01%.
Dieta crescimento peletizada	Milho (8,2%PB), 52,71 %; farelo de soja, 22,03 %; glúten de milho, 5,61 %; fosfato bicálcico, 1,63%; calcário, 1,09 %; mistura mineral, 0,10 %, mistura vitamínica, 0,10 %; cloreto de sódio, 0,34 %; BHT, 0,01 %; óleo de soja, 1,83 %; amido, 18,15 %; material inerte 0,83 %.

A acidez ou alcalinidade tituláveis (AT) foram calculadas segundo a metodologia utilizada por GIGER-REVERDIN *et al* (2002), definida como a quantidade de ácido ou base requerida para alterar o pH entre o pH_i e 5,0, com os resultados expressos em mEq/100 g de matéria seca (MS) do alimento. A capacidade tamponante (CT) é então calculada dividindo os valores de AT pelo intervalo de pH considerado na determinação. Não se observou diferença entre os ácidos usados na titulação para AT e CT ($p > 0,99$), sendo assim os valores obtidos com cada ácido foram considerados como replicatas para cada amostra. A MS dos alimentos foi medida em estufa de ar forçado à temperatura de 105 °C até peso constante. Os resultados das medidas de pH_i, AT e CT foram submetidos à análise de variância considerando as classes de ingredientes. As médias foram comparadas pelo teste de Duncan com nível de significância de 5 %, e foi medida a correlação linear entre o pH_i e a CT.

2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 2.1 estão apresentados os resultados obtidos por material estudado.

Os valores de pH_i, AT e CT variaram de 3,35 a 8,91, 0,49 a 120,30 (mEq/100 g MS) e 0,12 a 88,30 (AT/intervalo de pH), respectivamente.

A amostras de FBC, Premix2 e TRE destacaram-se por apresentar valores de pH_i menores que 5,0, de 3,35, 4,12 e 4,50 respectivamente. Já a o NaCl mostrou pH_i elevado, com um valor médio de 8,91. Esses valores foram diferentes dos obtidos por LAWLOR *et al*. (2005), que registraram valores de pH_i de 7,5 para NaCl, 6,5 para TRE e 6,5 para LIS. Essas diferenças podem ser atribuídas a diferenças de composição nos lotes de ingredientes e às condições de análise (temperatura, água, etc.). O pH_i obtido para as amostras de milho, FS e SLP foram similares aos registrados por GIGER-REVERDIN *et al* (2002) e VAN OOIJEN (2000). LAWLOR *et al*. (2005) obtiveram valor de pH_i 0,8 pontos mais alto para uma amostra de milho, e valores de 5,2 para duas pré-misturas vitamínicas e minerais para fases pré-inicial e crescimento. Para a medida AT (mEq/100 g MS), os materiais NaCl, QRA e os aminoácidos apresentaram valores menores que 2, enquanto FC, plasma, Premix2 apresentaram valores maiores que 30, chegando a 120 para FBC. A ordem de

classificação dos materiais quanto à AT está coerente com os resultados de LAWLOR *et al* (2005), que mediu a AT até o pH 4 e 3.

TABELA 2.1 – MATERIAL, NÚMERO DE AMOSTRAS DE CADA MATERIAL (N) E VALORES MÉDIOS E DESVIO PADRÃO DE pH INICIAL (pHi), ACIDEZ OU ALCALINIDADE TITULÁVEIS (AT) E CAPACIDADE TAMPONANTE (CT).

Material	N	pHi	AT ¹	CT ²
Lisina	1	5,70 ±0,04	1,00 ±0,08	1,43 ±0,15
Metionina	2	5,93 ±0,24	1,35 ±0,75	1,42 ±0,55
Treonina	1	4,50 ±0,01	1,53 ±0,01	2,84 ±0,01
Farinha de carne	2	7,14 ±0,26	38,18 ±2,90	17,31 ±1,67
Farinha de penas	2	6,12 ±0,15	11,61 ±2,38	10,86 ±3,36
Farinha de vísceras	3	6,38 ±0,06	29,38 ±3,99	21,68 ±3,21
Plasma	1	6,83 ±0,22	44,57 ±2,71	24,48 ±4,37
Soro de leite em pó	1	6,4 0 ±0,01	12,70 ±0,98	9,13 ±0,68
Far. de arroz integral	1	6,63 ±0,06	29,51 ±0,88	18,18 ±0,56
Far. de arroz deseng.	1	6,47 ±0,06	25,85 ±2,90	17,80 ±1,67
Milho	3	5,96 ±0,10	3,36 ±0,60	3,44 ±0,39
Quirera de arroz	1	6,48 ±0,04	1,92 ±0,65	1,30 ±0,47
Dieta cresc. pelet.	2	5,98 ±0,20	11,50 ±1,20	12,21 ±2,46
Dieta pré-inicial pelet.	1	6,27 ±0,03	11,04 ±0,94	8,78 ±0,58
Resíduo de biscoito	1	6,40 ±0,02	9,86 ± 0,51	7,09 ±0,24
Fosfato bicálcico	1	3,35 ±0,002	120,30 ±0,01	72,95 ±0,02
Mist. vit. e min. cresc.	1	4,12 ±0,02	77,44 ±0,01	88,30 ±0,01
Mist. vit. e min. pré-inic.	1	5,60 ±0,05	11,88 ±1,73	19,66 ±1,38
NaCl	1	8,91 ± 0,15	0,49 ±0,04	0,12 ±0,01
Farelo de Soja	3	6,40 ± 0,04	29,21 ±0,95	21,06 ±0,63
Soja integral	1	6,32 ± 0,09	17,27 ±0,79	12,94 ±0,11
Soja integral tostada	1	6,45 ± 0,04	17,50 ±1,59	12,10 ±0,75

¹mEq/100 g MS; ²AT/intervalo pH

Os valores mais altos de CT (AT/intervalo de pH) foram obtidos com o FBC e o Premix2, maiores que 70, enquanto os mais baixos, menores que 4, foram obtidos

com QRA, milho e os aminoácidos. Estes valores estão dentro da expectativa a partir dos resultados publicados por JASAITIS *et al* (1987) e LAWLOR *et al* (2005).

Na Tabela 2.2 são apresentados os resultados de acordo com a classificação dos materiais estudados. Dentre os aminoácidos e os suplementos minerais houve amostras com valores de pHi superiores e inferiores a 5,0, e com base nisso essas classes de materiais foram subdivididas em “ácidos” e “neutros”.

TABELA 2.2 – VALORES MÉDIOS E DESVIO PADRÃO DE pH INICIAL (pHi), ACIDEZ OU ALCALINIDADE TITULÁVEIS (AT) E CAPACIDADE TAMPONANTE (CT) PARA AS CLASSES DE INGREDIENTES E DIETAS ANALISADOS¹.

CLASSES	P _{Hi}	AT ²	CT ³
Soja e subprodutos	6,40 ±0,60 cb	24,48 ±1,11 b	17,64 ±0,50 b
Cereais e subprodutos	6,24 ±0,06 cb	11,23 ±1,09 c	7,93 ±0,66 cd
Ingr. de origem animal	6,54 ±0,14 b	27,22 ±2,59 b	17,22 ±2,66 b
Aminoácidos “neutros”	5,85 ±0,14 c	1,23 ±0,41 c	1,42 ±0,35 e
Aminoácidos “ácidos”	4,50 ±0,05 d	1,53 ±0,20 c	2,84 ±0,16 de
Supl. minerais “neutros”	7,26 ±0,10 a	6,19 ±0,88 c	9,89 ±0,69 c
Supl. minerais “ácidos”	3,73 ±0,05 e	98,87 ±14,45 a	83,63 ±6,36 a
Dietas	6,16 ±0,08 cb	10,97 ±0,88 c	10,07 ±1,10 c

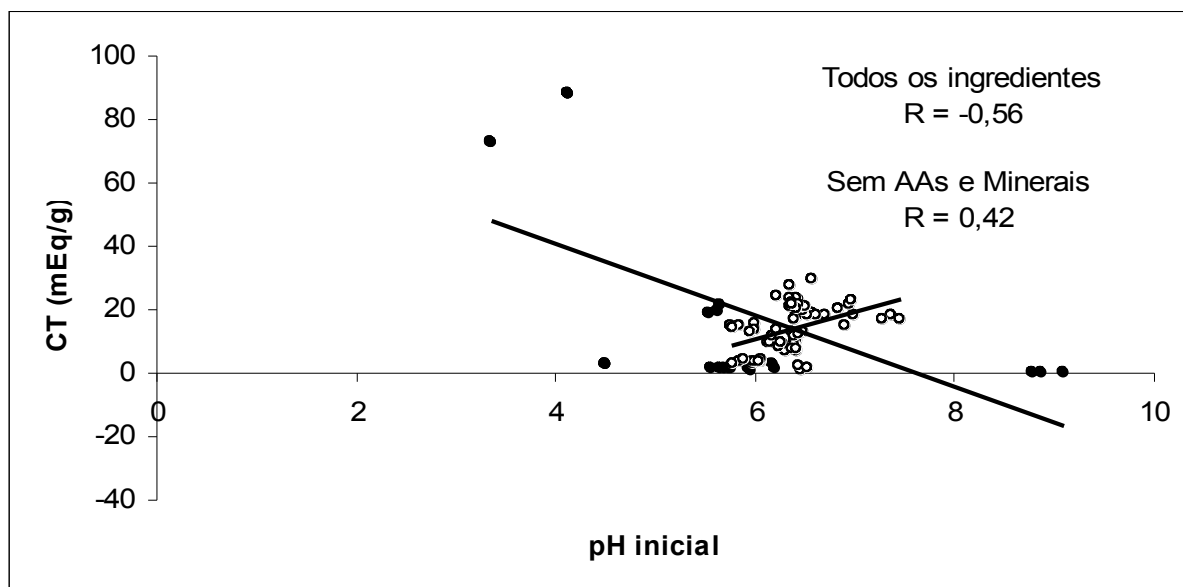
¹Médias seguidas de letras distintas na coluna diferem pelo teste de Duncan (P< 0.05); ²mEq/100 g matéria seca; ³AT/intervalo de pH.

Os minerais “ácidos” e “neutros” apresentaram respectivamente o menor e maior valor médio de pHi (P<0,05). As dietas, os cereais, a soja e seus subprodutos apresentaram valores similares de pHi, que não foram significativamente diferentes dos obtidos para os aminoácidos “neutros” e os ingredientes de origem animal (P>0,05). Os aminoácidos “ácidos” apresentaram valores de pHi intermediários entre os dois grupos (P<0,05). Com a medida AT as classes foram separadas em três grupos, com menores valores para os suplementos minerais “ácidos”, seguidos pelos produtos da soja e os ingredientes de origem animal, com valores intermediários, sendo as demais classes agrupadas com os mais baixos valores (P<0,05). A medida CT mostrou maior sensibilidade que a AT, resultando em diferença significativa entre os aminoácidos “neutros” e as classes suplementos minerais “neutros”, cereais e dietas. BOLDUAN *et al.* (1988) observaram que o aumento da suplementação mineral na dieta de 0 a 4% triplicou o valor de AT da mesma, o que está de acordo com os elevados valores de CT em minerais

registrados por LAWLOR *et al.* (2005). PROHASZKA e BARON (1980) observaram que os valores de CT aumentaram para ingredientes com maiores níveis de proteína. No presente trabalho, excetuando-se os suplementos minerais e os aminoácidos, as classes com maiores AT e CT foram os suplementos protéicos, que poderiam ser agrupados dentro da mesma classe, com exceção talvez de ingredientes com alto nível de cálcio, como algumas farinhas de carne (Tabela 2.1).

A correlação entre o pH_i e a CT foi negativa incluindo-se os aminoácidos e os minerais, mas foi positiva com a retirada dessas classes de amostra (Figura 2.1). A inconsistência da correlação demonstra que o pH_i não é estimativa confiável da CT.

FIGURA 2.1 - CORRELAÇÃO ENTRE o pH INICIAL E CAPACIDADE TAMPONANTE.



2.4 CONCLUSÕES

A medida capacidade tamponante descreve melhor as diferenças entre alimentos e dietas que o pH em solução e a acidez ou alcalinidade tituláveis. Sugere-se a formação de subclasses para alguns materiais, como minerais e aminoácidos, que apresentaram valores extremos para as todas as variáveis mensuradas. O pH inicial não apresentou uma correlação consistente com a capacidade tamponante, não sendo, portanto, uma boa estimativa para tal característica.

2.5 REFERÊNCIAS

BACCAN, N.; DE ANDRADE, J.C., GODINHO, O.E.S., BARONE, J.S. **Química Analítica Quantitativa Elementar**. Campinas: Edgard Blucher, 1991. 259 p.

BOLDUAN, G., JUNG, H., SCHNABEL, E. SCHNEIDER, R. Recent advances in the nutrition of weaner pigs. **Pig News and Information**, Blacksburg, v. 9, p. 381-385, 1988.

GABERT, V. M.; SAUER, W. C.; SCHMITZ, M.; AHRENS, F.; MOSENTHIN, R. The effect of formic acid and buffering capacity on the ileal digestibilities of amino acids and bacterial populations and metabolites in the small intestine of weanling pigs fed semipurified fish meal diets. **Journal of Animal Science**, Canadá, v. 75, p. 615-623, 1995.

GIGER-REVERDIN, S.; PONTER, D.C.; SAUVANT, D.; MARTIN, O.; PRADO, N.I.; MÜLLER, R. Intrinsic buffering capacity of feedstuffs. **Animal Feed Science and Technology**, Paris, v.96, p.83-102, 2002.

JASAITIS, D.K., WOHLT, J.E. AND EVANS, J.L. Influence of feed-ion content on buffering capacity of ruminant feedstuffs in vitro. **Journal of Dairy Science**, New Brunswick, v.70, p. 1391-1403, 1987.

LAWLOR, P.G.; LYNCH, P.B.; CAFFREY, P.J.; O' REILLY, J.J.; O'CONNELL, M.K. Measurements of the acid-binding capacity of ingredients used in pig diets. **Irish Veterinary Journal**, Irlanda, v.58, p. 447-452, 2005.

McBURNEY, M.I, VAN SOEST, P.J., CHASE, L.E., Cation exchange capacity and buffering capacity of neutral-detergent fibers. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, New York, v. 34, p. 910-916, 1983.

OLIVEIRA Jr, J.M.; WARPECHOWSKI, M.B. Avaliação da aditividade de medida linearizada da capacidade tamponante da fibra em alimentos. In: I SIMPÓSIO SUL BRASILEIRO DE OVINOS E CAPRINOS. 2007, Curitiba, **Anais...** Curitiba: Universidade Federal do Paraná, 2007.

PARTANEN, K.; SILJANDER-RASI, H.; ALAVIUIHKOLA, T.; SUOMI, K.; FOSSI, M. Performance of growing-finishing pigs fed médium or high-fibre diets supplemented with avilamycin formic acido or formic acid-sorbate blend. **Livestock Production Science**, Finland, v.73, p. 139-152, 2002.

PENZ Jr,A.M. Hipótesis que jutifican el uso de acidos orgânicos em lãs dietas para aves y cerdos. **Avicultura Profesional**, v.9, n.1,p.46-51, 1991.

PROHASZKA, L.; BARON, F. The predisposing role of high dietary protein supplies in enteropathogenic *E. coli* infections of weaned pigs. **Zentralblatt für Veterinärmedizin**, v. 27, p. 222-232, 1980.

RISLEY, C. R.; KORNEGAY, E. T.; LINDEMANN, M. D.; WOOD, C. M.; EIGEL, W. N. Effect of feeding organic acids on selected intestinal content measurements at varying times postweaning in pigs. **Journal of Animal Science**, Blacksburg, p. 196-206, 1992.

ROTH, F.X. Ácidos orgânicos en nutrición porcina: eficacia y modo de acción. In: CURSO DE ESPECIALIZACIÓN, 11, 2000 [S.I.]. **Proceedings...** [S.I.]: Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal - FEDNA, 2000,p.169-181.

VAN OOIJEN. Quais os efeitos do Calprona – P adicionado a ração? **Boletim técnico**. Editora Verdugt. Porto Alegre. 2000.

WARPECHOWSKI, M. B.; CIOCCA, M. L. S. Propriedades físico-químicas da fibra em detergente neutro de alimentos isolados e misturados. **Archives of Veterinary Science**, Curitiba, v.11, n.1, p.23-26. 2006.

WARPECHOWSKI, M.B.; SILVA, D.A. Modificação de técnica de determinação da capacidade de troca catiônica da fibra em detergente neutro de alimentos. **Archives of Veterinary Science**, Curitiba, v. 11, n. 2, p. 30-33, 2006.

3. AVALIAÇÃO DE MÉTODO DE LINEARIZAÇÃO DE CURVAS DE TITULAÇÃO PARA DETERMINAÇÃO DA CAPACIDADE TAMPONANTE DE ALIMENTOS PARA ANIMAIS

RESUMO: Diferentes metodologias podem ser utilizadas para determinar a capacidade tamponante (CT) de alimentos para animais. Curvas de titulação são freqüentemente usadas para sua determinação, porém não possuem um comportamento linear, o que dificulta a utilização dos dados de forma aditiva. No presente estudo avaliou-se um método de linearização de curvas de titulação para determinação da capacidade tamponante de alimentos para animais. Foram utilizadas amostras de 46 ingredientes e sete misturas, classificados como ácidos, aminoácidos, suplementos vitamínicos e minerais, ingredientes de origem vegetal, ingredientes de origem animal e suas misturas. O pH inicial (pHi) foi determinado em todas as amostras e então a solução foi levada ao pH 8,0 com NaOH 0,050 N e as curvas de titulação do pH 8,0 ao 2,0 foram realizadas com HCl 0,100 N, com intervalos de aproximadamente 0,2 pontos de pH, registrados após 60s de estabilização sob agitação com barra magnética. A acidez titulável (mEq/g de MS da amostra) foi avaliada de duas formas: como a quantidade de ácido necessária para a redução do pHi da solução até o pH 2,0 (AT_pHi), e como a quantidade de ácido necessária para reduzir o pH da solução do 8,0 ao 2,0, denominada de acidez titulável padrão (ATp). A capacidade tamponante (CT) foi obtida dividindo os valores da ATp pelo intervalo de pH do 8,0 ao 2,0. A medida linearizada da CT, denominada de taxa linear de tamponamento (TLT), foi obtida transformando os dados de pH por meio da função $Y=EXP(1/pH)$ e a TLT foi calculada como o inverso da inclinação da regressão linear entre a medida transformada de pH e a quantidade de ácido adicionada. O método de linearização mostrou-se adequado para as curvas de titulação dos materiais avaliados, sendo que todas as classes de ingredientes apresentaram r^2 ajustado superior a 0,880 e erro padrão residual menor que 0,108. A aditividade das diferentes medidas também foi avaliada, utilizando análise de regressão linear entre os valores medidos e calculados para as misturas. A TLT foi a medida com maior aditividade, demonstrando potencial para a formulação linear de dietas para animais com base nesta medida.

Palavras-chave: aditividade, curvas de titulação, linearização, pH, regressão linear.

3. EVALUATION OF LINEARIZATION METHOD OF TITRATION CURVES FOR DETERMINATION OF ANIMAL FEEDS BUFFERING CAPACITY

ABSTRACT: Different methods can be used to determine the animal feeds buffering capacity (BC). Titration curves are often used for BC determination; however, these curves have non-linear behavior, hampering the use of data additively. In the present study a linearization method of titration curves for determination of animal feeds buffering capacity was evaluated. Were used samples of 46 ingredients and 7 mixes, classified as acids, amino acids, vitamin and mineral supplements, vegetable ingredients, animal ingredients and their mixes. The initial pH (pHi) was determined in all the samples and then the solution was brought to pH 8.0 with NaOH 0,050 N and the titration curves from pH 8.0 to 2.0 were realized with HCl 0,100 N, with interval approximately 0,2 points of pH, recorded 60 s after stabilization under stirring with magnetic bar. The titratable acidity (mEq/ g sample dry matter) was determined in two ways: as the amount of acid required to reduce the solution pHi to 2.0 (AT_pHi), and as the amount of acid required to reduce the solution pH from 8.0 to 2.0, called standart titratable acidity (STA). The buffering capacity (BC) was obtained dividing the STA values by pH range from 8.0 to 2.0. The BC linearized measure, linear buffering ratio (LBR), was determined transforming the data of pH through the function $Y=EXP(1/pH)$ and LBR was calculated as inverse of the slope of the linear regression between the transformed measure of pH and amount added of acid. The linearization method has proved to be suitable for the titration curves of materials evaluated, with all classes of ingredients showed adjusted r^2 greater than 0.880 and residual standart error less than 0.108. The additivity of diferents measures was evaluated also, using linear regression analysis between measured and calculated values for mixes. The LBR was the measure with higher additivity, showing potential for the linear formulation of animal diets based on this measure.

Key words: additivity, linearization, linear regression, pH, titration curves.

3.1 INTRODUÇÃO

Uma solução tampão pode ser definida como aquela que apresenta notável propriedade de resistir a uma modificação de pH por efeito de diluição ou adição de pequenas quantidades de ácidos ou bases (OHLWEILER, 1982). Assim, VAN SOEST *et al* (1991), definem a propriedade físico-química capacidade tamponante (CT) como a facilidade de uma molécula reter ou trocar cátions por H^+ , de acordo com o meio onde se encontra.

De acordo com VAN SOEST (1994) as propriedades físico-químicas dos alimentos, como a capacidade de troca catiônica e a acidez titulável, podem afetar os processos gastrintestinais. Para LAWLOR *et al* (2005), alguns ingredientes da dieta possuem maior CT que outros e por esta razão devem ser omitidos de dietas para leitões, por exemplo, que devem ter sua acidez gástrica potencializada. Segundo VAN SOEST *et al* (1991), a CT dos alimentos tem influência na oscilação do pH durante os processos nutricionais no trato digestório. Assim, uma avaliação adequada da CT dos alimentos e o entendimento dos fatores que possuem influência sobre esta medida são considerados importantes tanto para ruminantes quanto para monogástricos.

Diversos autores têm trabalhado com metodologias diferentes para a determinação da CT de alimentos para animais (McBURNEY *et al.*, 1983; GABERT *et al.*, 1995; VAN OOIJEN, 2000; GIGER-REVERDIN *et al.*, 2002; WARPECHOWSKI e CIOCCA, 2006; WARPECHOWSKI e SILVA, 2006; OLIVEIRA Jr. e WARPECHOWSKI, 2007). Dentre as medidas utilizadas pode-se citar: a acidez ou alcalinidade titulável (AT), conceituada como a quantidade de ácido ou base requerida para redução do pH da amostra em solução em um intervalo determinado (McBURNEY *et al.*, 1983; WARPECHOWSKI e CIOCCA, 2006); a capacidade tamponante propriamente dita (CT), obtida pela razão entre a AT e o intervalo de pH utilizado (McBURNEY *et al.*, 1983; GABERT *et al.*, 1995; LAWLOR *et al.*, 2005; BOCKOR *et al.*, 2007); e ainda medidas que utilizam parâmetros das curvas de titulação, quando a CT é calculada como o inverso da inclinação da regressão linear ou não linear obtida entre o pH (Y) e a quantidade adicionada de ácido ou base (X) (GIGER-REVERDIN *et al.*, 2002).

Entretanto, a avaliação da propriedade físico-química CT realizada por meio de curvas de titulação, tanto em alimentos inteiros (GABERT *et al.*, 1995; GIGER-REVERDIN *et al.*, 2002; LAWLOR *et al.*, 2005; BOCKOR *et al.*, 2007), quanto em porções deles, como a fibra em detergente neutro (FDN) (McBURNEY *et al.*, 1983; WARPECHOWSKI, 1996; WARPECHOWSKI *et al.*, 2005; WARPECHOWSKI e CIOCCA, 2006), tem demonstrado o comportamento não linear destas curvas, principalmente nas faixas de pH abaixo de 4,0. Isto torna a CT uma medida não aditiva, não sendo possível estimar a CT das misturas a partir da CT de seus ingredientes por formulação linear simples.

OLIVEIRA Jr e WARPECHOWSKI (2007), utilizando curvas de titulação da fibra de diferentes alimentos e misturas publicadas por WARPECHOWSKI e CIOCCA (2006), demonstraram que a transformação exponencial dos dados de pH geram resultados que se ajustam aceitavelmente à regressão linear, resultando em medida mais aditiva da CT. Esta transformação leva em consideração a função logarítmica que originou a medida de pH (VAN SLYKE, 1922), podendo assim as regressões lineares se ajustarem as curvas de titulação dentro da faixa de pH fisiológico do trato gastrointestinal (8,0 – 2,0).

A linearização é interessante pelo fato de que, a CT sendo uma medida aditiva, poderá ser utilizada para formulação linear de dietas animais. Segundo GABERT *et al.* (1995) e WARPECHOWSKI (1996) a determinação de curvas de titulação leva em torno de uma a duas horas e precisa ser feita individualmente, o que torna difícil sua implantação nos controles de qualidade de produtos em fábricas de ração animal.

O objetivo do presente estudo foi avaliar método de linearização de curvas de titulação para determinação da CT de diferentes ingredientes de dietas animais, em faixas de pH do 8,0 ao 2,0.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

Foram coletadas 46 amostras de ingredientes utilizados na alimentação animal e formuladas sete misturas a partir de alguns destes ingredientes. Em seguida as amostras passaram pelo processo de moagem, mantendo um tamanho padrão (0,05 mm), sendo então armazenadas em geladeira (produtos de origem

animal e vegetal) ou em sala com controle de temperatura e umidade (saís, ácidos e suplementos), por período máximo de até seis meses. O material experimental foi agrupado em diferentes classes, como apresentado no Quadro 3.1.

QUADRO 3.1- CLASSES FORMADAS E INGREDIENTES QUE AS COMPÕE

Classe	Ingredientes
Ácidos	Ácido acético (AA), ácido benzóico (AB), ácido cítrico (AC), ácido fosfórico (AFO), ácido fumárico (AFU), ácido láctico (AL).
Aminoácidos	Colina (COL), lisina (LIS), metionina (MET), treonina (TRE)
Suplementos minerais e vitamínicos	Bicarbonato de sódio (BS), Calcário calcítico (CC), farinha de ostra (FO), fosfato bicálcico (FB), premix mineral (PM), premix vitamínico e mineral (PVM), premix vitamínico (PV), sal (NaCl)
Ingredientes de Origem vegetal	Casca de soja (CS), farelo de arroz integral (FA), farelo de soja (FS), farelo de trigo (FT), milho (M), milho pré-cozido (MPC), soja integral (SI), trigo grãos (TG)
Ingredientes de origem animal	Farinha de carne (FC), farinha de carne e ossos (FCO), farinha de penas (FP), farinha de peixe (FPX), farinha de sangue (FSG), farinha de vísceras (FV), soro de leite (SL), hemácia (HM)
Misturas	Mistura A - 65% M + 35% FS Mistura B - 90% mistura A + 10% CS Mistura C - 80% mistura A + 20% CS Mistura D - 90% mistura A + 10% FT Mistura E - 80% mistura 01 + 20% FT Mistura F - 25%M + 25%FS + 25%CS + 25% FT Mistura G – (25%M + 25%FS + 25%CS + 25% FT)*79% + 20% FCO + 0,30% NaCl + 0,20% PM + 0,50% CC

A colina foi incluída juntamente com os aminoácidos por ser um material puro. As composições dos premix mineral, vitamínico e vitamínico e mineral estão apresentadas no Quadro 3.2.

Para todos os ingredientes e misturas determinou-se o pH inicial (pHi) e as curvas de titulação de acordo com metodologia adotada por GABERT *et al.* (1995), com as seguintes modificações: utilizou-se 0,5 a 0,6 g de amostra para diluição em 50 ml de água destilada e deionizada. O pH foi mensurado na solução sob agitação magnética constante, utilizando peagâmetro pH 330:SET, WTW, com precisão de três casas após a vírgula, ajuste para temperatura e média dos valores de pH automática. A partir da determinação do pHi, utilizando micropipetas volumétricas, acrescentou-se NaOH 0,050N para elevar o pH da solução até 8,0. Em seguida a solução foi titulada com HCl até o pH 2,0, sendo utilizado HCl 0,050 N no início da titulação e HCl 0,100 N do até o pH 2,0. O pH foi medido 60 segundos após cada adição de HCl com volume variável, de forma a se obter intervalos de aproximadamente 0,2 pontos de pH. Os volumes de HCl adicionados foram

expressos em mEq/g MS de amostra. A MS das amostras foi medida em estufa de ar forçado à temperatura de 105 °C até peso constante.

QUADRO 3.2: COMPOSIÇÕES DOS PREMIX MINERAL, VITAMÍNICO E VITAMÍNICO E MINERAL.

Premix	Composição
Mineral	Zinco, 110.000 mg; selênio, 360 mg; iodo, 1.400 mg; cobre, 20.000 mg; manganês, 156.00 mg; ferro, 96.000 mg.(Valores por kg do produto)
Vitamínico	Vit. A, 8.000 ui; vit. D3, 2.000 ui; vit. E, 16.000 ui; ácido fólico, 800 mg; ácido pantotênico, 10.000 mg; biotina, 60 mg; vit. B2, 4.000 mg; vit. B6, 2.000 mg; BHT, 100 mg; vit. B1, 1.500 mg; vit. K3, 2.000mg; vit. B12, 10.000 mg; niacina, 30.000 mg.(Valores por kg do produto)
Vitamínico e mineral	Vit. A, 18.000 ui; vit. D3, 37.000 ui; vit. E, 150 g; Vit. K 10 mg; vit. B12, 110 mcg; pantotenato de Ca, 80mg; niacina, 200 mg; colina, 2.500mg; selênio, 3 mg; cobre, 120 mg; ferro, 1.000 mg; zinco, 1.475; magnésio, 1.236 mg; sódio, 25 g; iodo, 13 mg; antioxidante, 60 mg.(Valores por kg do produto)

A acidez titulável (mEq/g de MS da amostra) foi avaliada de duas formas: como a quantidade de ácido necessária para a redução do pH da solução até o pH 2,0 (AT_pHi), e como a quantidade de ácido necessária para reduzir o pH da solução do valor 8,0 ao 2,0, sendo esta denominada acidez titulável padrão (ATp). A capacidade tamponante (CT) foi obtida dividindo os valores da ATp pelo intervalo de pH do 8,0 ao 2,0.

Para a determinação da medida linearizada da CT, denominada de taxa linear de tamponamento (TLT), os dados de pH foram transformados por meio da função $Y=EXP(1/pH)$, e a TLT foi calculada como inverso da inclinação da regressão linear entre a medida transformada de pH, como variável dependente, e a quantidade de ácido adicionada, como variável independente.

O coeficiente de determinação ajustado (r^2) e o erro padrão residual (EPR) das regressões lineares foram utilizados para avaliar a adequação do método de linearização das curvas de titulação das diferentes classes de materiais no intervalo de pH de 8,0 ao 2,0.

Para determinação da aditividade, os valores medidos de AT_pHi, ATp, CT e TLT dos ingredientes que foram utilizados para compor as misturas, foram usados para o cálculo da AT_pHi, ATp, CT e TLT destas misturas. A aditividade destas medidas foi avaliada pela diferença entre os valores medidos e os calculados, expressa em percentagem dos valores medidos, o desvio padrão desta diferença, e também pelos coeficientes de regressão e determinação das regressões lineares. Foi considerado mais aditiva a medida que obteve menor desvio padrão das

diferenças entre o determinado e o calculado, coeficientes de regressão mais próximos de 1 e maiores coeficientes de determinação.

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados de r^2 ajustado e do EPR das regressões lineares ajustadas às curvas de titulação para as diferentes classes de materiais analisadas são apresentados na Tabela 3.1.

As curvas de titulação linearizadas demonstraram um bom ajuste à regressão linear para todas as classes de ingredientes avaliadas. As classes de amostras que apresentaram menor valor de r^2 ajustado foram a de suplementos vitamínicos e minerais e a de aminoácidos, com valores de 0,886 e 0,887 respectivamente. As demais classes obtiveram r^2 ajustado superior a 0,920, sendo que as misturas se destacaram por apresentarem o maior r^2 ajustado (0,969).

TABELA 3.1. VALORES MÉDIOS DO COEFICIENTE DE DETERMINAÇÃO AJUSTADO (r^2) E DO ERRO PADRÃO RESIDUAL (EPR) DAS REGRESSÕES LINEARES AJUSTADAS ÀS CURVAS DE TITULAÇÃO PARA AS CLASSES DE INGREDIENTES E MISTURAS ANALISADOS.

CLASSES	r^2	EPR
Ácidos	0,925	0,076
Aminoácidos	0,887	0,108
Supl. Vitamínicos e minerais	0,886	0,104
Ingredientes de origem vegetal	0,936	0,062
Ingredientes de origem animal	0,959	0,038
Misturas	0,969	0,029

Os resultados obtidos de EPR das regressões lineares ajustadas às curvas de titulação dos materiais experimentais avaliados demonstraram que a classe das misturas foi a que apresentou melhor ajuste com valor de EPR de 0,029. Já os aminoácidos foi a classe que obteve maior EPR (0,108) seguido dos suplementos vitamínicos e minerais (0,104).

OLIVEIRA Jr. *et al* (dados não publicados), avaliando a linearização de curvas de titulação para fibra de alimentos em faixas amplas de pH, considerando r^2 e EPR, demonstraram que os ajustes às regressões lineares foi ligeiramente inferior para as curvas de titulação com intervalo de pH do 8,0 ao 2,0, se comparadas com curvas em outros intervalos, com pH final mais alto (8,0 a 4,0 e 8,0 a 3,0). De

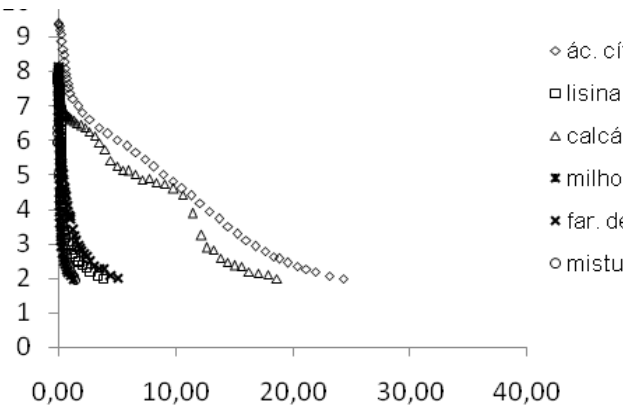
qualquer forma, os valores de r^2 ajustado obtidos no presente trabalho estão próximos dos valores obtidos por aqueles autores, e pouco inferiores aos valores obtidos por GIGER-REVERDIN *et al* (2002), com modelos exponenciais para ajustar curvas na faixa de pH do 7,0 ao 4,0. Além disso, o uso de parâmetros de modelos não lineares como os propostos por GIGER-REVERDIN *et al* (2002) não permitiria o uso da medida para formulação linear, objetivo maior deste estudo.

BACAN *et al.* (1979) definem pH como o logaritmo da concentração de hidrogênio livre em solução. Como as funções logarítmicas apresentam um comportamento curvilíneo, por meio da função exponencial, que é o inverso do logaritmo neperiano (STEEL e TORRIE, 1960), é possível linearizar as funções logarítmicas realizando a transformação exponencial do inverso do pH. Esta alternativa para linearização pode ser observada na Figura 3.1, que demonstra algumas curvas de titulação no seu formato padrão e as curvas linearizadas.

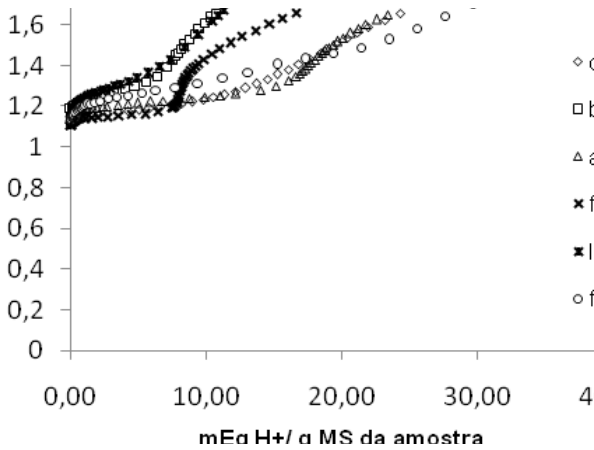
Materiais como os sais e os ácidos puros demonstraram alterações mais evidentes nas curvas de titulação. Isto ocorre devido a estes materiais apresentarem constantes de dissociação (pK) concentradas em determinadas faixas de pH, pois possuem poucos ou um único sítio ativo. Amostras de ingredientes de origem vegetal e animal e as misturas, que possuem uma composição mais complexa, apresentaram uma alteração mais suave das curvas de titulação, decorrente da diversidade de pK dos sítios ativos de seus componentes. Por outro lado o comportamento das misturas incluindo os minerais não foi alterado visivelmente pelo pK destes materiais, pela proporcionalmente pequena quantidade da incorporação e também pela alteração no comportamento de cada substância na presença das demais substâncias da mistura em solução.

FIGURA 3.1: CURVAS DE TITULAÇÃO DE ALGUNS INGREDIENTES DETERMINADAS DO pH 8,0 AO 2,0 (a), CURVAS LINEARIZADAS DAS CLASSES DOS ÁCIDOS (b), AMINOÁCIDOS (c), SUPLEMENTOS VITAMÍNICOS E MINERAIS (d), INGREDIENTES DE ORIGEM VEGETAL (e), INGREDIENTES DE ORIGEM ANIMAL (f), E MISTURAS (g).

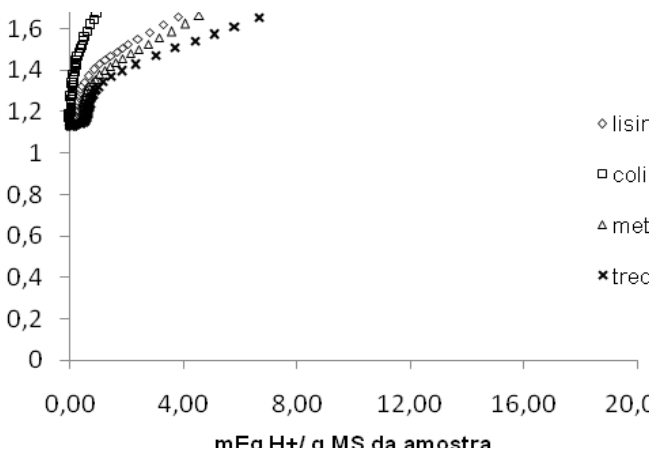
a)



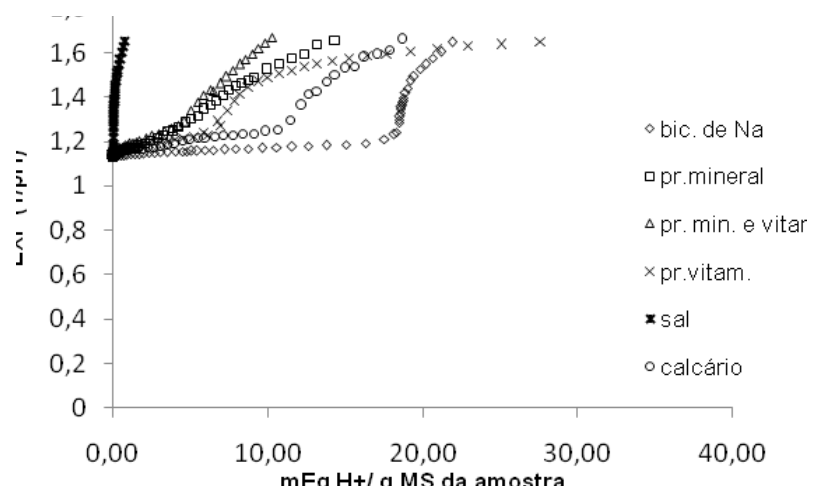
b)



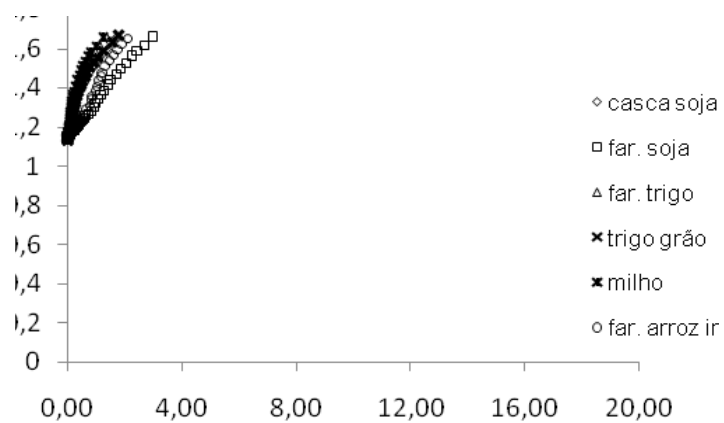
c)



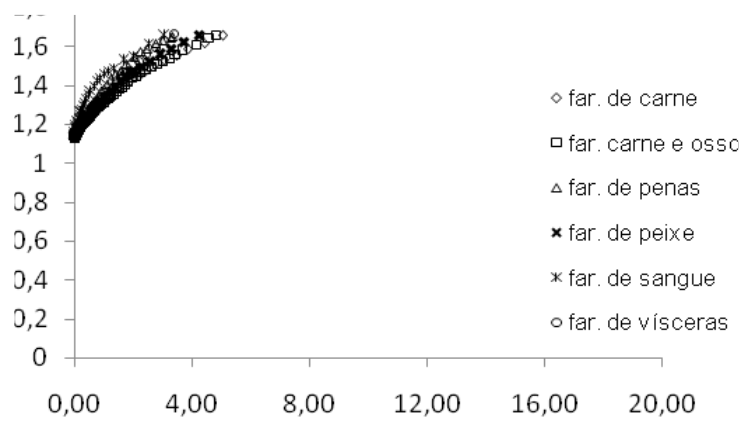
d)



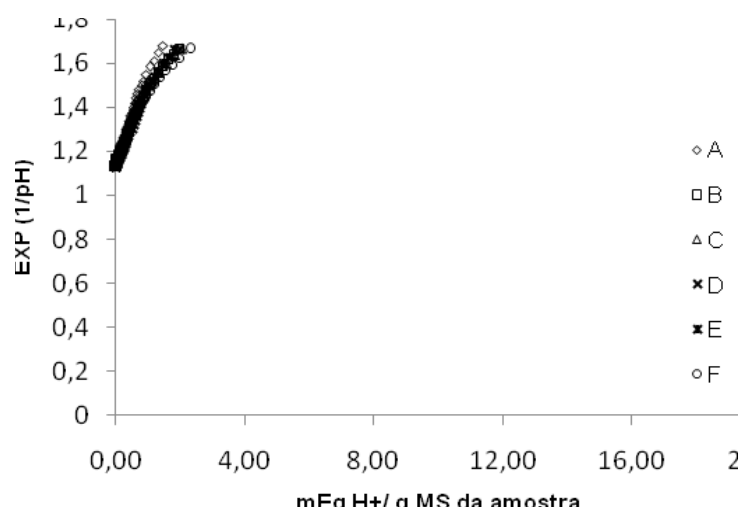
e)



f)



g)



Os resultados dos valores medidos e calculados para a acidez titulável determinada a partir do pH_i (AT_pH_i), acidez titulável padrão (AT_p), capacidade tamponante (CT) e taxa linear de tamponamento (TLT) para as misturas analisadas, e a comparação da aditividade dos métodos são apresentados nas Tabelas 3.2 e 3.3.

O desvio padrão (DP) das diferenças entre AT_pH_i, AT_p, CT e TLT medidas e calculadas apresentou maior valor para a medida AT_pH_i (20,75). O menor valor foi observado para o DP das diferenças entre a TLT medida e calculada (18,94), quase 9% menor que o valor da AT_pH_i.

O coeficiente de regressão entre as variáveis medidas e calculadas foi maior para a AT_pH_i (3,65), apresentando o menor valor para a TLT (3,04). O coeficiente de determinação entre as medidas apresentou menor valor para as medidas CT e AT_pH_i (0,79), sendo o maior valor observado para a TLT (0,86).

A mistura G apresentou maior diferença entre os valores medidos e os calculados para todos os métodos avaliados. Esta mistura continha suplementos minerais e farinha de carne e ossos. Estes valores elevados podem estar associados à solubilização gradativa dos minerais durante o tempo de titulação.

Avaliando-se a aditividade das medidas por meio das diferenças entre valores medidos e calculados, dos coeficientes de regressão e determinação, pode-se observar que a TLT foi a medida mais eficiente no aumento da aditividade, demonstrando que o método de linearização utilizado se mostra potencialmente eficaz para diminuir o erro da estimativa do valor de CT de dietas a partir do valor de seus ingredientes. Por outro lado, para esta avaliação foram utilizadas médias de

apenas duas replicatas, e dada a amplitude da diferença entre elas é possível esperar que a utilização de número maior de replicatas pudesse diminuir o erro da predição.

TABELA 3.2. VALORES MÉDIOS MEDIDOS E CALCULADOS DA ACIDEZ TITULÁVEL DETERMINADA A PARTIR DO pH INICIAL (AT_pHi) E ACIDEZ TITULÁVEL PADRÃO (ATp), DIFERENÇA ENTRE OS VALORES MEDIDOS E CALCULADOS EXPRESSA EM % DO VALOR MEDIDO, DESVIO PADRÃO (DP) DA DIFERENÇA, COEFICIENTE DE REGRESSÃO (b) E COEFICIENTE DE DETERMINAÇÃO (r^2) DAS MISTURAS ANALISADAS.

Misturas*	¹ AT_pHi Medida	¹ AT_pHi Calculada	(% da AT_pHi medida)	¹ ATp Medida	¹ ATp calculada	(% da ATp medida)
A	1,30	1,69	-29,70	1,33	1,71	-28,35
B	1,84	1,70	8,06	1,89	1,72	9,01
C	2,10	1,70	18,72	2,13	1,73	18,65
D	1,96	1,64	16,16	1,99	1,67	16,28
E	1,75	1,69	3,13	1,80	1,62	9,54
F	2,21	1,73	21,53	2,24	1,76	21,39
G	3,30	2,09	36,70	3,41	2,13	37,45
DP			20,75			20,17
b			3,65			3,42
r ²			0,79			0,80

* Composição das misturas: A: 65% milho(M) + 35% (FS); B: 90% mistura A + 10% casca de soja (CS); C: 80% mistura A + 20% (CS); D: 90% mistura A + 10% farelo de trigo (FT); E: 80% mistura 01 + 20% (FT); F: 25%M + 25%FS + 25%CS + 25% FT; G: (25%M + 25%FS + 25%CS + 25% FT)*79% + 20% farinha de carne e ossos + 0,30% NaCl + 0,20% premix mineral + 0,50% calcário. ¹Meq/g MS amostra

TABELA 3.3. VALORES MÉDIOS MEDIDOS E CALCULADOS DA CAPACIDADE TAMPONANTE (CT) E DA TAXA LINEAR DE TAMPONAMENTO (TLT), DIFERENÇA ENTRE OS VALORES MEDIDOS E CALCULADOS EXPRESSA EM % DO VALOR MEDIDO, DESVIO PADRÃO (DP) DA DIFERENÇA, COEFICIENTE DE REGRESSÃO (b) E COEFICIENTE DE DETERMINAÇÃO (r^2) DAS MISTURAS ANALISADAS.

Misturas*	¹ CT Medida	¹ CT Calculada	(% da CT Medida)	¹ TLT Medida	¹ TLT calculada	(% da TLT Medida)
A	0,22	0,28	-28,76	2,23	2,70	-21,19
B	0,31	0,28	8,70	3,19	2,75	13,77
C	0,34	0,28	17,82	3,62	2,80	22,52
D	0,33	0,27	16,24	3,37	2,64	21,56
E	0,29	0,26	7,91	3,09	2,57	16,59
F	0,36	0,29	20,92	3,84	2,85	25,93
G	0,55	0,34	36,91	6,18	3,68	40,37
DP			20,16			18,94
b			3,49			3,04
r ²			0,79			0,86

* Composição das misturas: A: 65% milho(M) + 35% (FS); B: 90% mistura A + 10% casca de soja (CS); C: 80% mistura A + 20% (CS); D: 90% mistura A + 10% farelo de trigo (FT); E: 80% mistura 01 + 20% (FT); F: 25%M + 25%FS + 25%CS + 25% FT; G: (25%M + 25%FS + 25%CS + 25% FT)*79% + 20% farinha de carne e ossos + 0,30% NaCl + 0,20% premix mineral + 0,50% calcário. ¹Meq/g MS amostra

A AT_pHi foi uma das medidas que demonstrou menor aditividade entre as metodologias avaliadas. A acidez titulável medida a partir do pH_i (GIGER-REVERDIN *et al*, 2002; BOCKOR *et al*, 2007), acarreta valores de acidez titulável

dependentes do pH_i do material analisado. De acordo com OLIVEIRA Jr. *et al* (dados não publicados) materiais que possuem pH_i variável terão conseqüentemente variação na medida de acidez titulável para qualquer ponto de pH_i determinado, e, portanto, não terão alta correlação com demais medidas como capacidade tamponante por exemplo.

A ATp apresentou aditividade ligeiramente menor que a TLT. Esse resultado está de acordo com o registrado por WARPECHOWSKI e CIOCCA (2006), que avaliou a capacidade tamponante da FDN de cinco ingredientes de dietas para monogástricos. Estes autores demonstraram que medidas como a acidez titulável podem ser potencialmente aditivas, se comparadas a medidas como capacidade de troca catiônica, sendo estas determinadas conforme técnica descrita por McBURNEY *et al* (1983), onde a acidez titulável é determinada no intervalo de pH do 7,0 ao 2,0, e não a partir de pH_i .

Por outro lado, de acordo com OLIVEIRA Jr *et al* (dados não publicados), a acidez titulável é um valor fixo. Já a CT quando avaliada pela inclinação da regressão linear com valores transformados de pH e com preservação da unidade original da adição de ácido, é uma taxa que permite a estimativa desta propriedade físico-química em qualquer intervalo de pH dentro da faixa estudada (8,0 – 2,0).

Apesar da melhoria na medida com o método de linearização adotado, o maior erro, com todas as medidas avaliadas, na estimativa da CT da mistura que continha suplementos minerais e farinha de carne e ossos, sugere necessidade de mais estudos para a determinação da curva nesse tipo de mistura.

3.4 CONCLUSÕES

O método de linearização proposto se mostrou ajustável à regressão linear para os materiais estudados, permitindo se obter, com erro aceitável, uma taxa linear única que explica a capacidade tamponante em qualquer faixa de valores entre o pH 8,0 e 2,0.

A medida desenvolvida, TLT, demonstrou maior aditividade, quando comparada a outras medidas de referência.

Mais estudos, incluindo o aumento do número e variação nos alimentos e suplementos avaliados, a avaliação de repetibilidade e sensibilidade da medida, bem como a avaliação da metodologia em múltiplos laboratórios, são necessários para aumentar a confiança e padronizar a metodologia laboratorial desenvolvida para a determinação das curvas de titulação.

3.5 REFERÊNCIAS

BACCAN, N.; DE ANDRADE, J.C., GODINHO, O.E.S., BARONE, J.S. **Química Analítica Quantitativa Elementar**. Campinas: Edgard Blucher, 1991. 259 p.

BOCKOR, L.; DAHLKE, F. MAIORKA, A.; CASTRO, O.S.; DE OLIVEIRA, E.G.; KRABBE, E.L.; WARPECHOWSKI, M.B. Comparação de medidas da capacidade tamponante de matérias-primas e dietas utilizadas para leitões. **Archives of Veterinary Science**, Curitiba, vol.12, n.3, p. 71-76, 2007.

GABERT, V. M.; SAUER, W. C.; SCHMITZ, M.; AHRENS, F.; MOSENTHIN, R. The effect of formic acid and buffering capacity on the ileal digestibilities of amino acids and bacterial populations and metabolites in the small intestine of weanling pigs fed semipurified fish meal diets. **Journal of Animal Science**, Canada, v. 75, p. 615-623, 1995.

GIGER-REVERDIN, S.; PONTER, D.C.; SAUVANT, D.; MARTIN, O.; PRADO, N.I.; MÜLLER, R. Intrinsic buffering capacity of feedstuffs. **Animal Feed Science and Technology**, Paris, v.96, p.83-102, 2002.

LAWLOR, P.G.; LYNCH, P.B.; CAFFREY, P.J.; O' REILLY, J.J.; O'CONNELL, M.K. Measurements of the acid-binding capacity of ingredients used in pig diets. **Irish Veterinary Journal**, Irlanda, v.58, p. 447-452, 2005.

McBURNEY, M.I, VAN SOEST, P.J., CHASE, L.E., Cation exchange capacity and buffering capacity of neutral-detergent fibers. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, New York, v. 34, p. 910-916, 1983.

OHLWEILER, O.A. **Química Analítica Quantitativa**. Rio de Janeiro: LTC - Livros Técnicos e Científicos Editora S.A., 3ª ed, 1982. 273 p.

OLIVEIRA Jr, J.M.; WARPECHOWSKI, M.B. Avaliação da aditividade de medida linearizada da capacidade tamponante da fibra em alimentos. In: I SIMPÓSIO SUL BRASILEIRO DE OVINOS E CAPRINOS. 2007, Curitiba, **Anais...** Curitiba: Universidade Federal do Paraná, 2007.

STEEL R. G. D.; TORRIE, J. H. **Principles and procedures of statistics**. New York: McGraw-Hill Book Company, INC, 1960. 481 p.

VAN OOIJEN. Quais os efeitos do Calprona – P adicionado a ração? **Boletim técnico**. Editora Verdugt. Porto Alegre. 2000.

VAN SLYKE, D. D. On the measurement of buffer value to the dissociation constant of the buffer and the concentration and reaction of the buffer solution. **The Journal of Biological Chemistry**, v.57, p.525-570, 1922.

VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B.; LEWIS, B.A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**. Savoy, v. 74, p 3583-3597, 1991.

VAN SOEST, P. J. Fiber and Physicochemical Properties of Feeds. In: **Nutritional Ecology of the Ruminant**. USA: Comstock Publishing Associates, 1994. p.140-155.

WARPECHOWSKI, M. B. **Efeito da fibra insolúvel da dieta sobre a passagem no trato gastrointestinal de matrizes machos de linhagem de corte intactos, cecectomizados e fistulados no íleo terminal**. Porto Alegre, RS. 117p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1996.

WARPECHOWSKI, M.B; PINHEIRO, C.C.; CIOCCA, M.L.S. Propriedades físico-químicas da fibra de diferentes palhas de trigo em detergente neutro. **Archives of Veterinary Science**, v. 10, n. 3, p. 38-41, 2005.

WARPECHOWSKI, M. B.; CIOCCA, M. L. S. Propriedades físico-químicas da fibra em detergente neutro de alimentos isolados e misturados. **Archives of Veterinary Science**, Curitiba, v.11, n.1, p.23-26. 2006.

WARPECHOWSKI, M.B.; SILVA, D.A. Modificação de técnica de determinação da capacidade de troca catiônica da fibra em detergente neutro de alimentos. **Archives of Veterinary Science**, Curitiba, v. 11, n. 2, p. 30-33, 2006.

4. AVALIAÇÃO DA TAXA LINEAR DE TAMPONAMENTO PARA INGREDIENTES DE DIETAS ANIMAIS

RESUMO: Curvas de titulação são métodos adequados para determinar a capacidade tamponante de alimentos (CT), porém possuem comportamento não-linear, resultando em parâmetros não aditivos. No presente trabalho avaliou-se a CT de 46 ingredientes e sete misturas por meio de diferentes medidas: pH inicial (pHi), acidez titulável determinada a partir do pH inicial (AT_pHi), acidez titulável padrão (ATp) determinada a partir do pH 8,0, capacidade tamponante (CT) e a medida linearizada da CT, denominada de taxa linear de tamponamento (TLT). As amostras foram classificadas como ácidos, aminoácidos, suplementos vitamínicos e minerais, ingredientes de origem vegetal, ingredientes de origem animal e misturas. O pHi foi mensurado em soluções com 0,5 a 0,6 g de amostra diluídas em 50 ml de água destilada e deionizada. A partir da determinação do pHi, utilizou-se NaOH 0,05 N para elevar o pH da solução até 8,0. Em seguida a solução foi titulada com HCl até o pH 2,0, sendo utilizado HCl 0,05 N no início da titulação e HCl 0,1 N até o pH 2,0, adicionados com micro-pipeta automática, de forma a obter-se intervalos de aproximadamente 0,2 pontos de pH, que foi mensurado após 60 s de estabilidade sob agitação com barra magnética. A AT_pHi foi determinada como sendo a quantidade de HCl necessária para reduzir o pHi da solução até o pH 2,0, e a ATp como a quantidade de HCl necessária para reduzir o pH da solução do 8,0 ao 2,0. A CT foi obtida dividindo os valores da ATp pelo intervalo de pH do 8,0 ao 2,0, e para a determinação da TLT, os dados de pH foram transformados por meio da função $Y=EXP(1/pH)$, sendo a TLT calculada como o inverso da inclinação da regressão linear entre a medida transformada de pH e a quantidade de ácido adicionada. As medidas foram avaliadas quanto a repetibilidade, pela amplitude da diferença entre replicatas, e sensibilidade, pela diferença mínima significativa de SNK (5%). A TLT não alterou a ordem de classificação das classes de ingredientes, quando comparada a CT. Em geral, a padronização da faixa de pH e a linearização aumentaram a sensibilidade e repetibilidade da medição, especialmente para ácidos e suplementos minerais. Ainda assim, todas as medidas avaliadas, exceto o pHi, apresentaram diferença média entre replicatas considerada alta.

Palavras chave: ingredientes, pH, propriedade físico-química, repetibilidade, taxa linear de tamponamento.

4. EVALUATION OF LINEAR BUFFERING RATIO FOR INGREDIENTS OF ANIMALS DIETS

ABSTRACT: Titration curves are suitable methods for BC determination, however, these curves have nonlinear behavior, resulting in non additive parameters. In the present study the BC was evaluated in 46 feeds and seven mixes, by several measures: initial pH (pHi), the titratable acidity determined from the pHi (AT_pHi), the standardized titratable acidity determined from the pH 8.0 (STA), the buffering capacity (BC) and the BC linearized measure, called linear buffering ratio (LBR), were determined in 46 ingredients and 7 mixes. The samples were classified as acids, amino acids, vitamin and mineral supplements, vegetable ingredients, animal ingredients and mixes. The pHi was measured in solutions with 0.5 to 0.6 g of sample diluted in 50 ml of distilled deionized. From the determination, was used NaOH 0,050 N to raise the solution pH until 8.0. Then the solution was titrated with HCl to pH 2.0, using HCl 0,050 N at the beginning of the titration and HCl 0,100 N to pH 2.0, added with automatically micro-pipette, in order to obtain intervals of approximately 0.2 points of pH, with was measured after 60 s of stability under stirring with magnetic bar. The AT_pHi was determined as the amount of HCl required to reduce the solution pHi to 2.0, and the STA as the amount of acid needed to reduce the solution pH from 8.0 to 2.0. BC was obtained dividing the values of STA by pH range from 8.0 to 2.0., and for the LBR determination, the pH data were processed by the function $Y = \text{EXP}(1/\text{pH})$, and the LBR calculated as the inverse of the slope of the linear regression between the transformed measure of pH and amount of acid added. The measures were evaluated for repeatability, by the amplitude of the replicate difference, and sensitivity, by the least significant difference of the SNK test (5%). The LBR didn't change the classification order of the ingredients classes when compared to BC. In general ways, standardization and linearization increased the sensibility and repeatability of the determination, specially for acids and mineral supplements. However, all evaluated measures, except the pHi, showed mean differences between replicates considered to high.

Key words: ingredients, linear buffering ratio, pH, physicochemical property, repeatability.

4.1 INTRODUÇÃO

A variação na qualidade das matérias primas utilizadas e a disponibilidade de alimentos alternativos, com composição e níveis de nutrientes variáveis, têm estimulado a investigação dos efeitos das propriedades físico-químicas dos alimentos sobre o aproveitamento dos nutrientes pelos animais.

A capacidade tamponante (CT) de ingredientes e dietas é uma propriedade físico-química que muitas vezes tem sido relevada na hora de formular uma ração. LEHNINGER *et al* (1995), definem os tampões como sistemas aquosos que apresentam capacidade de resistir a alterações de pH quando pequenas quantidades de ácido ou base são adicionadas ou perdidas. Desta forma McBURNEY *et al* (1983) denominam CT a habilidade de uma dada quantidade de um alimento em resistir a mudança de pH após a adição de uma solução ácida ou básica.

Segundo JASAITIS *et al* (1987), a origem geográfica de um ingrediente pode afetar sua CT, pois influencia a concentração de íons deste, o que pode ajudar a explicar a variação na CT encontrada para cada ingrediente. VIOLA (2006) relata que a CT de uma dieta é influenciada pela fonte e pela quantidade de proteína e minerais que compõe esta dieta. De acordo com BOLDUAN *et al* (1988) a CT da dieta é um dos fatores que influencia a resposta dos ácidos orgânicos, gerando resultados conflitantes quando do estudo destes ácidos.

Entretanto, LAWLOR *et al* (2005) afirmam que existe pouca informação sobre a CT de ingredientes que são utilizadas nas formulações de rações. Segundo os autores, o limitado número de dados que têm sido publicados demonstram diferentes metodologias para determinação da CT, tornando assim, os valores não comparáveis. De acordo com VIOLA (2006), os métodos de determinação da CT diferem quanto ao tipo de substrato envolvido, o tamanho da amostra, o tipo de ácido ou base utilizados para titulação, o pH no ponto final e a forma como os resultados são expressos, o que dificulta uma padronização para a medida.

Metodologias apresentadas por autores para determinação da CT em alimentos inteiros (GABERT *et al.*, 1995; GIGER-REVERDIN *et al.*, 2002; LAWLOR *et al.*, 2005; BOCKOR *et al.*, 2007) e na fibra em detergente neutro (McBURNEY *et al.*, 1983; WARPECHOWSKI, 1996; WARPECHOWSKI *et al.*, 2005;

WARPECHOWSKI e CIOCCA, 2006), demonstram o comportamento não linear das curvas de titulação utilizadas para obtenção da CT, o que torna a medida não aditiva. Por isso existe a necessidade de linearização destas curvas, e de um método padrão para determinar a CT, para que esta se torne uma medida comparável e possível de ser utilizada em formulação linear de dietas animais.

De acordo OLIVEIRA Jr e WARPECHOWSKI (2007) e OLIVEIRA Jr. et al (dados não publicados), considerando a função logarítmica que dá origem à medida do pH (VAN SLYKE, 1922), é possível linearizar as curvas de titulação dentro da faixa de pH do 8,0 ao 2,0, utilizando a transformação exponencial para ajustar as regressões lineares às curvas. A CT, quando avaliada pela inclinação da regressão linear com valores transformados de pH e com preservação da unidade original da adição de ácido, é uma taxa que permite a estimativa desta propriedade físico-química em qualquer intervalo de pH dentro da faixa estudada (8,0 – 2,0). Dados apresentados no Capítulo anterior (03) demonstraram que o bom ajuste da linearização da CT tornou a medida mais aditiva, quando comparada a outras medidas já utilizadas. O objetivo do presente estudo foi avaliar a repetibilidade e sensibilidade da nova medida linearizada, denominada taxa linear de tamponamento (TLT), em comparação à medidas de referência já utilizadas para determinação da capacidade tamponante, além de descrever a TLT de ingredientes e misturas utilizados na alimentação animal.

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

Quarenta e seis amostras de ingredientes utilizados na alimentação animal e sete misturas formuladas a partir de alguns destes ingredientes, foram utilizadas para este experimento. Em seguida as amostras passaram pelo processo de moagem (0,05 mm) para padronização do tamanho, sendo então armazenadas em geladeira (produtos de origem animal e vegetal) ou em sala de controle de temperatura e umidade (sais, ácidos e suplementos), por período de até seis meses. O material experimental foi agrupado em diferentes classes (Quadro 3.1, Capítulo 3) A colina foi incluída juntamente com os aminoácidos por ser um material puro. As composições dos premix mineral, vitamínico e vitamínico e mineral estão apresentadas no Quadro 3.2 (Capítulo 3).

O pH_i inicial (pH_i), a acidez titulável determinada a partir do pH_i (AT_pH_i), a acidez titulável padrão (ATp), a capacidade tamponante (CT), e a medida linearizada da CT, denominada, taxa linear de tamponamento, foram determinados de acordo metodologia descrita no Capítulo 3 desta dissertação.

As medidas determinadas (AT_pH_i, ATp, CT e TLT) foram avaliadas quanto a repetibilidade e sensibilidade. A repetibilidade dos ingredientes e das classes de ingredientes foi avaliada por meio da amplitude da diferença entre replicatas de análise (em percentagem da média), dos valores para diferentes ingredientes e classes. Os resultados foram submetidos à análise de variância considerando as classes de ingredientes e as médias foram comparadas pelo teste de S-N-K com nível de significância de 5 %. A sensibilidade das medidas foi avaliada pela diferença mínima significativa deste teste.

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos por material avaliado são apresentados nas Tabelas 4.1 e 4.2. A amplitude dos ingredientes e misturas para os diferentes métodos avaliados são demonstrados na Tabela 4.3.

TABELA 4.1: MATERIAL, NÚMERO DE AMOSTRAS DE CADA MATERIAL (N) E VALORES MÉDIOS E DESVIO PADRÃO DE pH INICIAL (pH_i), ACIDEZ TITULÁVEL DETERMINADA A PARTIR DO pH INICIAL (AT_pH_i) E ACIDEZ TITULÁVEL PADRÃO (ATp), DETERMINADA A PARTIR DO pH 8,0.

<i>Material</i>	<i>N</i>	<i>pH_i</i>	<i>AT_pH_i[†]</i>	<i>ATp[†]</i>
Ácido acético	1	2,69 ± 0,01	5,10 ± 0,17	23,42 ± 0,08
Ácido benzóico	1	2,86 ± 0,01	3,30 ± 0,06	10,64 ± 0,09
Ácido cítrico	1	2,10 ± 0,01	1,54 ± 0,27	23,59 ± 1,02
Ácido fosfórico	1	1,37 ± 0,03	50,19 ± 6,23	16,51 ± 0,17
Ácido fumárico	1	3,45 ± 0,003	13,87 ± 6,53	23,38 ± 8,89
Ácido láctico	1	2,15 ± 0,07	1,73 ± 0,28	11,11 ± 0,26
Colina	1	5,53 ± 0,16	0,91 ± 0,04	0,94 ± 0,04
Lisina	1	5,53 ± 0,06	3,19 ± 0,47	4,54 ± 0,01
Metionina	1	5,62 ± 0,009	4,04 ± 0,07	3,48 ± 0,46
Treonina	1	6,85 ± 0,005	5,86 ± 0,40	6,36 ± 0,44
Bicarbonato de Na	1	8,17 ± 0,09	24,46 ± 3,29	24,36 ± 3,43
Premix mineral	1	5,05 ± 0,06	10,42 ± 1,58	13,46 ± 1,30
Premix min. e vitamínico	1	5,35 ± 0,01	9,12 ± 0,85	11,04 ± 1,09
Premix vitamínico	1	6,94 ± 0,01	20,83 ± 9,50	20,91 ± 9,55
Sal	2	6,17 ± 0,24	0,84 ± 0,11	0,84 ± 0,11
Calcário	2	9,80 ± 0,29	19,98 ± 1,00	19,90 ± 0,95
Farinha de ostra	1	9,93 ± 0,04	8,21 ± 2,26	8,15 ± 2,26

Fosfato bicálcico	1	6,65 ± 0,006	12,19 ± 0,007	12,53 ± 0,01
Casca de soja	2	6,91 ± 0,006	1,88 ± 0,16	1,91 ± 0,17
Farelo de arroz integral	1	7,14 ± 0,002	2,07 ± 0,02	2,11 ± 0,02
Farelo de soja	4	7,01 ± 0,15	2,91 ± 0,40	2,96 ± 0,41
Soja integral	1	6,95 ± 0,02	1,84 ± 0,42	1,89 ± 0,42
Farelo de trigo	2	6,68 ± 0,16	1,47 ± 0,27	1,52 ± 0,29
Trigo grãos	1	6,53 ± 0,01	1,73 ± 0,05	1,78 ± 0,05
Milho	4	6,76 ± 0,13	1,25 ± 0,15	1,27 ± 0,15
Milho pré cozido	1	5,76 ± 0,17	1,58 ± 0,12	1,64 ± 0,13
Farinha de carne	1	7,37 ± 0,03	5,35 ± 0,46	5,36 ± 0,46
Farinha de carne e ossos	2	6,71 ± 0,59	4,19 ± 0,35	4,26 ± 0,41
Farinha de penas	1	8,72 ± 0,10	3,68 ± 0,45	3,66 ± 0,45
Farinha de peixe	1	7,47 ± 0,03	4,33 ± 0,15	4,36 ± 0,14
Farinha de sangue	1	7,29 ± 0,008	2,82 ± 0,33	2,83 ± 0,33
Farinha de vísceras	2	6,60 ± 0,13	3,85 ± 1,01	3,97 ± 1,04
Hemácia	1	7,47 ± 0,02	3,38 ± 0,13	3,44 ± 0,13
Soro de leite	1	6,81 ± 0,01	2,23 ± 0,02	2,34 ± 0,04
Mistura A	1	6,86 ± 0,07	1,30 ± 0,17	1,33 ± 0,18
Mistura B	1	6,91 ± 0,006	1,84 ± 0,11	1,89 ± 0,10
Mistura C	1	7,00 ± 0,01	2,10 ± 0,08	2,13 ± 0,08
Mistura D	1	6,92 ± 0,02	1,96 ± 0,02	1,99 ± 0,02
Mistura E	1	6,97 ± 0,03	1,75 ± 0,00	1,80 ± 0,009
Mistura F	1	7,00 ± 0,003	2,21 ± 0,08	2,24 ± 0,08
Mistura G	1	6,59 ± 0,03	3,30 ± 0,14	3,41 ± 0,17

¹Meq/g MS amostra

TABELA 4.2: MATERIAL, NÚMERO DE AMOSTRAS DE CADA MATERIAL (N) E VALORES MÉDIOS E DESVIO PADRÃO DA CAPACIDADE TAMPONANTE (CT) E DA TAXA LINEAR DE TAMPONAMENTO (TLT).

<i>Material</i>	<i>N</i>	<i>CT¹</i>	<i>TLT²</i>
Ácido acético	1	3,77 ± 0,16	58,50 ± 0,26
Ácido benzóico	1	1,54 ± 0,19	24,94 ± 0,67
Ácido cítrico	1	3,44 ± 0,22	49,86 ± 2,08
Ácido fosfórico	1	2,71 ± 0,06	29,80 ± 1,17
Ácido fumárico	1	2,74 ± 1,27	49,69 ± 14,96
Ácido láctico	1	1,57 ± 0,19	24,19 ± 0,57
Colina	1	0,15 ± 0,007	1,58 ± 0,03
Lisina	1	0,57 ± 0,07	5,80 ± 0,90
Metionina	1	0,75 ± 0,004	7,90 ± 0,04
Treonina	1	1,05 ± 0,07	11,06 ± 1,05
Bicarbonato de Na	1	3,96 ± 0,58	65,73 ± 1,26
Premix mineral	1	2,17 ± 0,14	23,88 ± 2,78
Premix min. e vitamínico	1	1,75 ± 0,11	22,31 ± 3,18
Premix vitamínico	1	3,45 ± 1,55	36,73 ± 7,96
Sal	2	0,13 ± 0,02	1,78 ± 0,22
Calcário	2	3,22 ± 0,15	45,39 ± 4,97
Farinha de ostra	1	1,35 ± 0,37	14,15 ± 4,36
Fosfato bicálcico	1	2,04 ± 0,01	24,31 ± 0,44
Casca de soja	2	0,31 ± 0,02	3,43 ± 0,37
Farelo de arroz integral	1	0,35 ± 0,005	3,83 ± 0,007
Farelo de soja	4	0,49 ± 0,07	5,50 ± 0,86
Soja integral	1	0,31 ± 0,06	3,33 ± 0,79
Farelo de trigo	2	0,24 ± 0,04	2,54 ± 0,59
Trigo grãos	1	0,28 ± 0,007	2,97 ± 0,07

Milho	4	0,20 ± 0,03	2,13 ± 0,21
Milho pré cozido	1	0,26 ± 0,02	2,77 ± 0,17
Farinha de carne	1	0,88 ± 0,08	9,62 ± 0,87
Farinha de carne e ossos	2	0,69 ± 0,06	7,62 ± 0,85
Farinha de penas	1	0,59 ± 0,07	6,37 ± 0,59
Farinha de peixe	1	0,70 ± 0,02	8,12 ± 0,89
Farinha de sangue	1	0,46 ± 0,05	5,01 ± 0,43
Farinha de vísceras	2	0,64 ± 0,17	7,06 ± 1,93
Hemácia	1	0,56 ± 0,02	6,11 ± 0,18
Soro de leite	1	0,37 ± 0,004	3,92 ± 0,13
Mistura A	1	0,22 ± 0,03	2,23 ± 0,31
Mistura B	1	0,31 ± 0,01	3,19 ± 0,18
Mistura C	1	0,34 ± 0,01	3,62 ± 0,13
Mistura D	1	0,33 ± 0,004	3,37 ± 0,01
Mistura E	1	0,29 ± 0,002	3,09 ± 0,02
Mistura F	1	0,36 ± 0,01	3,84 ± 0,11
Mistura G	1	0,54 ± 0,01	6,18 ± 0,11

¹ATp/intervalo pH (Meq/g MS amostra); ²Inverso da inclinação entre a medida transformada de pH e a quantidade de ácido adicionada (Meq/g MS amostra)

TABELA 4.3: MATERIAL, NÚMERO DE AMOSTRAS (N), NÚMERO DE REPLICATAS LABORATORIAIS (R), VALOR MÉDIO DE AMPLITUDE DE CADA MATERIAL (%) E AMPLITUDE MÉDIA (%) PARA AS MEDIDAS, pH INICIAL (pHi), ACIDEZ TITULÁVEL DETERMINADA A PARTIR DO pH INICIAL (AT_pHi), ACIDEZ TITULÁVEL PADRÃO (ATp), CAPACIDADE TAMPONANTE (CT) E TAXA LINEAR DE TAMPONAMENTO (TLT).

Material	N	R	pHi	AT_pHi ¹	ATp ¹	CT ²	TLT ³
Ácido acético	1	2	0,85	5,00	0,50	6,29	0,63
Ácido benzóico	1	2	1,04	25,00	6,14	9,51	6,00
Ácido cítrico	1	2	0,70	2,70	1,33	19,56	3,84
Ácido fosfórico	1	2	3,41	19,24	1,55	3,20	5,74
Ácido fumárico	1	2	0,11	66,67	42,37	63,73	54,09
Ácido láctico	1	2	4,86	23,22	3,45	17,69	3,33
Colina	1	2	4,44	7,46	6,45	6,86	3,27
Lisina	1	2	0,23	2,64	0,61	0,82	0,84
Metionina	1	2	1,68	21,24	19,04	19,35	22,13
Treonina	1	2	0,10	9,69	9,84	10,33	13,51
Bicarbonato de Na	1	2	1,55	21,07	22,15	23,35	2,76
Premix mineral	1	2	1,88	21,55	13,68	9,50	16,49
Premix min. e vitamínico	1	2	0,29	14,16	15,14	10,14	22,42
Premix vitamínico	1	2	0,21	64,51	64,58	63,70	30,64
Sal	2	4	3,03	6,45	6,27	10,43	4,23
Calcário	2	4	0,44	4,00	3,80	4,34	3,66
Farinha de ostra	1	2	0,57	48,54	49,00	49,30	55,82
Fosfato bicálcico	1	2	0,13	0,08	0,13	1,08	2,59
Casca de soja	2	4	0,58	9,79	10,00	9,34	14,38
Farelo de arroz integral	1	2	0,04	1,84	2,00	2,35	0,26
Farelo de soja	4	8	1,07	12,00	12,73	12,21	10,61
Soja integral	1	2	0,54	32,37	38,17	37,00	40,71
Farelo de trigo	2	4	0,86	12,31	11,06	11,00	12,23
Trigo grãos	1	2	0,33	4,11	4,51	3,45	3,40
Milho	4	8	1,47	3,46	3,54	4,34	4,00
Milho pré cozido	1	2	4,39	10,83	11,34	13,83	9,02
Farinha de carne	1	2	0,67	13,02	13,00	14,54	13,75

Farinha de carne e ossos	2	4	3,32	12,35	13,00	14,00	15,00
Farinha de penas	1	2	1,63	19,23	19,35	19,64	14,19
Farinha de peixe	1	2	0,56	5,01	5,00	5,11	17,00
Farinha de sangue	1	2	0,16	17,00	16,87	17,50	12,38
Farinha de vísceras	2	4	2,49	25,75	26,03	29,00	29,87
Hemácia	1	2	0,49	6,00	5,56	5,80	4,48
Soro de leite	1	2	0,38	1,87	3,05	1,67	4,85
Mistura A	1	2	1,48	19,24	19,75	20,90	20,00
Mistura B	1	2	0,11	8,60	8,20	7,21	8,36
Mistura C	1	2	0,22	6,00	5,79	5,65	5,37
Mistura D	1	2	0,41	1,53	1,65	1,79	0,74
Mistura E	1	2	0,61	0,22	0,74	1,32	0,96
Mistura F	1	2	0,05	5,53	5,50	6,06	4,22
Mistura G	1	2	0,75	6,56	7,51	3,58	2,59
Média			1,12	14,55	12,41	14,04	12,16

¹Meq/g MS amostra; ²ATp/intervalo pH (Meq/g MS amostra); ³Inverso da inclinação entre a medida transformada de pH e a quantidade de ácido adicionada (Meq/g MS amostra).

A medida pH_i apresentou o menor valor médio de amplitude (1,12%) comparado com as demais medidas avaliadas, que demonstraram valores de amplitude acima de 10,00%. Os valores de pH_i variaram entre 1,37 para o ácido fosfórico, a 9,93 para a farinha de ostra. Os ácidos se destacaram por apresentar pH_i abaixo de 3,50. Dentre os aminoácidos a treonina obteve o maior pH_i, com valor de 6,85. Este valor foi semelhante ao encontrado por LAWLOR *et al* (2005), porém não concorda com os obtidos por BOCKOR *et al* (2007) que encontraram valor de 4,50 para a treonina. Estas diferenças podem ocorrer devido a condições de análise (água, temperatura, contaminações, tempo armazenagem ingrediente, etc) ou variações de composições nos lotes de ingredientes. O pH_i obtido para as amostras de milho foram similares aos verificados por LAWLOR *et al* (2005), entretanto se mostraram superiores aos demonstrados por GIGER REVERDIN *et al* (2002) e BOCKOR *et al* (2007). GIGER REVERDIN *et al* (2002) encontraram valores de pH_i para farelo de soja e casca de soja de 6,76 e 5,35 respectivamente. No presente estudo o pH_i do farelo de soja obtido foi 0,25 pontos mais elevado e a casca de soja 1,56 pontos. JASAITIS *et al* (1987) encontraram pH_i para farinha de peixe no valor de 5,95, o que não está de acordo com LAWLOR *et al* (2005) que obtiveram valor de 6,70, e com presente estudo, que mostrou pH_i deste material de 7,47. O valor encontrado para bicarbonato de sódio foi similar ao obtido por JASAITIS *et al* (1987) e 0,6 pontos mais baixo que o demonstrado por LAWLOR *et al* (2005).

A medida AT_pH_i (mEq/ g MS da amostra) apresentou o valor médio mais elevado de amplitude (14,55%). O ácido fumárico, o premix vitamínico e a farinha de

ostra foram os materiais que demonstraram maior amplitude (acima de 45,00%), ao contrário do fosfato bicálcico e das misturas E e D, que apresentaram valores reduzidos (abaixo de 1,60%). Os materiais ácido fosfórico, bicarbonato de sódio e premix vitamínico apresentaram valores de AT_{pHi} superiores a 20, atingindo o valor de 50,19 para o ácido fosfórico. O sal, a colina, o milho e a mistura A, foram os materiais que obtiveram os menores valores para esta medida. LAWLOR *et al* (2005), que mediram a acidez titulável (AT) até o pH 4 e 3, encontraram classificação similar às do presente do estudo para os aminoácidos, observando também baixo valor para o sal e valor elevado para o bicarbonato de sódio. BOCKOR *et al* (2007) encontraram para a medida AT (mEq/100 g MS) valores mais baixos para sal, quirera de arroz e para os aminoácidos lisina, metionina e treonina, enquanto que os materiais farinha de carne, plasma e mistura vitamínica e mineral para fase de crescimento, obtiveram valores elevados, atingindo 120,00 para o fosfato bicálcico. No presente trabalho os materiais sal, colina, milho e mistura A continuaram apresentando os menores valores e a mesma classificação para a medida AT_p. A mesma ordem de materiais não permaneceu para os valores mais elevados, que apresentaram a seguinte seqüência: bicarbonato de sódio, ácido cítrico, ácido acético e ácido fumárico. A AT_p apresentou valor médio de amplitude de 12,41%. Para esta medida os materiais que apresentaram menor amplitude foram o fosfato bicálcico, o ácido acético e o aminoácido lisina (menor que 1,00%). Já o premix vitamínico, ácido fumárico e a farinha de ostra apresentaram amplitude acima de 48,00%.

Medidas de acidez titulável a partir do pHi como determinado neste estudo e também em outros trabalhos (JASAITIS *et al*, 1987; BOCKOR *et al*, 2007) acarretam valores de acidez titulável dependentes do pHi do material analisado. De acordo com OLIVEIRA Jr. *et al* (dados não publicados), materiais que possuem pHi variável terão conseqüentemente variação na medida de AT para qualquer ponto de pHi determinado.

Os valores mais altos para a CT (AT_p/intervalo de pH) foram obtidos para as amostras de bicarbonato de sódio, ácido acético, ácido cítrico e calcário, enquanto que os mais baixos foram observados para sal, colina, milho e mistura A. Estes valores estão de acordo com LAWLOR *et al* (2005) que observaram valores elevados de CT (AT/intervalo de pH) para bicarbonato de sódio e valores baixos para ingredientes como sal e milho. JASAITIS *et al* (1987) também encontraram

valor de CT (AT/intervalo de pH) elevado para bicarbonato de sódio, e obtiveram valores para os ingredientes de origem animal superiores aos de origem vegetal, concordando com os dados apresentados no presente estudo. BOCKOR *et al* (2007) observaram os mais elevados valores de CT (AT/intervalo de pH) para o fosfato bicálcico e mistura vitamínica e mineral para fase de crescimento, enquanto que o sal, quirera de arroz, milho e aminoácidos foram os materiais que apresentaram os menores valores. No presente estudo a medida CT apresentou valor médio de amplitude de 14,04%. Os materiais ácido fumárico, premix vitamínico e farinha de ostra continuaram apresentando valores elevados de amplitude para esta medida (acima de 45,00%), já o aminoácido lisina, fosfato bicálcico e as misturas E e D se destacaram com os menores valores (abaixo de 2,00%).

A medida linearizada TLT apresentou o segundo menor valor médio de amplitude (12,16%) depois do pHi. Farinha de ostra, ácido fumárico e soja integral apresentaram valores altos de amplitude (acima de 40,00%), e farelo de arroz integral, ácido acético e o aminoácido lisina obtiveram valores abaixo de 1,00% . A colina, sal, milho e mistura A apresentaram os valores mais baixos para a medida TLT. Já o bicarbonato de sódio, ácido acético, ácido cítrico e ácido fumárico obtiveram os valores mais elevados.

Os valores médios das medidas pHi, AT_pHi, ATp, CT e TLT e de suas amplitudes (%) , para as diferentes classes analisadas são apresentados nas Tabelas 4.4 e 4.5.

Todas as medidas avaliadas apresentaram valores elevados de amplitude para as diversas classes avaliadas, com exceção do pHi que apresentou amplitude menor que 2,00% para todas as classes. A classe das misturas apresentou em todas as medidas uma amplitude menor que 10,00 %. A alta variação na amplitude das demais medidas pode estar associada a pouca quantidade de material utilizada para determinação das mesmas (0,5 a 0,6 g), ou a utilização de apenas duas replicatas por cada amostra de material analisado. Entretanto, o aumento da quantidade de amostra mantendo-se a mesma concentração de ácido resultará em aumento proporcional no tempo de titulação, o que deve ser levado em consideração.

TABELA 4.4. VALORES MÉDIOS DAS MEDIDAS pH INICIAL (pHi), ACIDEZ TITULÁVEL DETERMINADA A PARTIR DO pH INICIAL (AT_pHi) E ACIDEZ TITULÁVEL PADRÃO (ATp), E AMPLITUDE (AM) DESTAS MEDIDAS, PARA AS CLASSES ANALISADAS¹.

CLASSES	pHi	AM(%)	AT_pHi ²	AM(%)	ATp ²	AM(%)
Ácidos	2,44 ^c	1,83	12,62 ^a	23,62	18,11 ^a	9,22
Aminoácidos	5,84 ^b	1,61	3,50 ^b	10,26	3,83 ^c	8,98
Supl. Vit e min	7,40 ^a	1,16	12,69 ^a	19,07	13,20 ^b	18,50
Ingr.Orig. Vg.	6,79 ^{ab}	1,15	1,91 ^b	9,69	1,95 ^c	10,19
Ingr.Orig. An.	7,18 ^a	1,50	3,79 ^b	13,83	3,85 ^c	14,07
Misturas	6,89 ^{ab}	0,52	2,07 ^b	6,80	2,11 ^c	7,02

¹Médias seguidas de letras distintas na coluna diferem pelo teste de S-N-K ($P < 0.05$); ²mEq/g MS amostra.

TABELA 4.5. VALORES MÉDIOS DAS MEDIDAS CAPACIDADE TAMPONANTE (CT) E TAXA LINEAR DE TAMPONAMENTO (TLT) E AMPLITUDE (AM) DESTAS MEDIDAS, PARA AS CLASSES ANALISADAS.

CLASSES	CT ²	AM(%)	TLT ³	AM(%)
Ácidos	2,80 ^a	20,00	39,50 ^a	10,97
Aminoácidos	0,63 ^b	9,34	6,59 ^c	9,94
Supl. Vit e min	2,14 ^a	18,66	28,15 ^b	14,65
Ingr.Orig. Vg.	0,32 ^b	10,21	3,46 ^c	10,29
Ingr.Orig. An.	0,62 ^b	15,00	6,85 ^c	15,62
Misturas	0,347 ^b	6,69	3,651 ^c	6,02

¹Médias seguidas de letras distintas na coluna diferem pelo teste de S-N-K ($P < 0.05$); ²ATp/intervalo de pH ((Meq/g MS amostra); ³Inverso da inclinação entre a medida transformada de pH e a quantidade de ácido adicionada (Meq/g MS amostra)

As classes dos ácidos e dos aminoácidos apresentaram os menores valores médios de pHi ($P < 0,05$). Os suplementos vitamínicos e minerais seguidos dos ingredientes de origem animal obtiveram os maiores valores médios de pHi, não apresentando, porém, diferença significativa das classes de ingredientes de origem vegetal e das misturas ($P > 0,05$). BOCKOR *et al* (2007) encontraram o menor valor médio de pHi para a classe dos minerais “ácidos” e maior valor para os minerais “neutros” ($P < 0,05$). Neste mesmo trabalho os autores encontraram valor de pHi para a classe de ingredientes de origem animal 0,6 pontos mais baixo que o verificado no presente estudo.

Para a medida AT_pHi a classe dos ácidos foi a que apresentou a maior amplitude (23,62%), podendo obter valores entre 9,60 a 15,60. Inversamente, a classe das misturas obteve a menor amplitude (6,80%). Os suplementos vitamínicos e minerais apresentaram o valor mais elevado para AT_pHi não diferindo estatisticamente dos ácidos que obtiveram o segundo valor mais alto ($P > 0,05$). As demais classes não apresentaram diferença significativa entre si, sendo que os ingredientes de origem vegetal obtiveram o menor valor para esta medida. Estes

dados estão de acordo com BOCKOR *et al* (2007) que encontraram maior valor da medida AT para a classe de suplementos minerais “ácidos”. LYNCH *et al* (1998) avaliando a AT (mEq ácido/1kg de MS do alimento) de dietas para suínos pós desmame, verificaram valores baixos desta medida para as classes de cereais, aminoácidos e produtos de raízes (mandioca, beterraba e batata chips). Naquele mesmo trabalho, os suplementos minerais e o formiato de cálcio demonstraram valores elevados.

Para ATp o valor médio mais alto foi observado para a classe dos ácidos (18,11). Os suplementos minerais e vitamínicos apresentaram um valor um pouco mais baixo que os ácidos (13,20), porém foi a classe que apresentou maior amplitude (18,50%). A medida ATp mostrou ser mais sensível que a AT_pHi, resultando em diferença significativa entre a classe dos ácidos e dos suplementos vitamínicos e minerais ($P < 0,05$). As demais classes não apresentaram diferença significativa, sendo que os ingredientes de origem vegetal permaneceram com o menor valor médio para esta medida ($P > 0,05$).

A medida CT apresentou menor valor médio para a classe de ingredientes de origem vegetal (0,32) e menor valor de amplitude para a classe das misturas (6,69%). O maior valor de CT foi observado para os ácidos (2,80), sendo também esta a classe que apresentou maior amplitude (20,00%) para esta medida. A CT, assim como a medida AT_pHi, não demonstrou diferença significativa entre os valores médios da classe dos ácidos e dos suplementos vitamínicos e minerais ($P > 0,05$). As demais classes não diferiram significativamente entre elas ($P > 0,05$). BOCKOR *et al* (2007) encontraram valor mais elevado de CT (AT/intervalo de pH) para a classe de suplementos minerais “ácidos”, e menores valores para os aminoácidos. LAWLOR *et al* (2005) verificaram valores elevados de CT para os minerais e para os sais ácidos. JASAITIS *et al* (1987) relataram que o conteúdo mineral do alimento é um importante fator que influencia a CT. Segundo os autores, a concentração de íons de cada alimento é dependente da origem (animal ou vegetal) e também como o alimento é processado.

LAWLOR *et al* (2005) verificaram valores baixos de CT para a classe dos cereais, o que é similar ao encontrado por outros autores (JASAITIS *et al*, 1987; BOLDUAN *et al*, 1988). Segundo VIOLA (2006), a CT de uma dieta é influenciada pela fonte e pela quantidade de proteína e minerais que compõe esta dieta. De acordo com JASAITIS *et al* (1987) um alto conteúdo de proteína bruta geralmente

aumenta o pH e a capacidade tamponante do alimento, devido à habilidade tamponante do grupo amino. No presente estudo, com exceção dos suplementos vitamínicos e minerais, ácidos e dos aminoácidos a classe com maior CT foi a de ingredientes de origem animal, que possui um valor mais elevado de proteína bruta se comparada as demais classes (origem vegetal e misturas).

A TLT apresentou seu maior valor médio para a classe dos ácidos (39,50), sendo que os suplementos vitamínicos e minerais demonstraram o segundo maior valor para esta medida (28,15), apresentando também a segunda maior amplitude para a medida (14,65%). Os ingredientes de origem animal foi a classe que apresentou a maior amplitude para esta medida (15,62%).

Dentre as medidas avaliadas aquelas que demonstraram maior sensibilidade foram a ATp e a TLT, apresentando diferença significativa entre as classes ácidos e suplementos minerais e vitamínicos. As medidas AT_pHi e CT não demonstraram diferença entre essas duas classes. BOCKOR *et al* (2007) comparando medidas de capacidade tamponante de ingredientes e dietas para leitões, observaram que a medida CT (ATp/intervalo pH) mostrou maior sensibilidade que a medida AT (mEq/100 g MS amostra).

A linearização da medida de CT não alterou a ordem de classificação das classes avaliadas. OLIVEIRA Jr *et al* (2008), avaliando a medida linearizada da CT (inverso da inclinação entre a medida transformada de pH e a quantidade de ácido adicionada) de volumosos e ingredientes como farelo de soja, soja integral e milho, observaram que a medida linearizada não alterou a classificação numérica dos materiais.

4.5 CONCLUSÕES

A medida linearizada, TLT, não alterou a ordem de classificação das classes de ingredientes. As medidas ATp e TLT mostraram maior sensibilidade em comparação às demais, portanto descrevem melhor as diferenças entre ingredientes e misturas do que o pH inicial, a acidez titulável determinada a partir do pH_i e a capacidade tamponante.

As medidas avaliadas, com exceção do pH_i, apresentaram alta amplitude entre replicatas laboratoriais para os valores médios analisados para cada material e para as classes formadas, sugerindo-se necessidade de aumento da precisão de análise ou do aumento no número de replicatas por amostra.

4.5 REFERÊNCIAS

BOCKOR, L.; DAHLKE, F.; MAIORKA, A.; CASTRO, O.S.; DE OLIVEIRA, E.G.; KRABBE, E.L.; WARPECHOWSKI, M.B. Comparação de medidas da capacidade tamponante de matérias-primas e dietas utilizadas para leitões. **Archives of Veterinary Science**, Curitiba, vol.12, n.3, p. 71-76, 2007.

BOLDUAN, V.G.; JUNG, H.; SCHNABEL, E.; SCHNEDIER, R. Recent advances in the nutrition of weaner piglets. **Pig News and Information**, v.9, p.381-385, 1988.

GABERT, V. M.; SAUER, W. C.; SCHMITZ, M.; AHRENS, F.; MOSENTHIN, R. The effect of formic acid and buffering capacity on the ileal digestibilities of amino acids and bacterial populations and metabolites in the small intestine of weanling pigs fed semipurified fish meal diets. **Journal of Animal Science**, Canada, v. 75, p. 615-623, 1995.

GIGER-REVERDIN, S.; PONTER, D.C.; SAUVANT, D.; MARTIN, O.; PRADO, N.I.; MÜLLER, R. Intrinsic buffering capacity of feedstuffs. **Animal Feed Science and Technology**, Paris, v.96, p.83-102, 2002.

JASAITIS, D.K.; WOHLT, J.E.; EVANS, J.L. Influence of feed-ion content on buffering capacity of ruminant feedstuffs in vitro. **Journal of Dairy Science**, New Brunswick, v.70, p. 1391-1403, 1987.

LAWLOR, P.G.; LYNCH, P.B.; CAFFREY, P.J.; O' REILLY, J.J.; O'CONNELL, M.K. Measurements of the acid-binding capacity of ingredients used in pig diets. **Irish Veterinary Journal**, Irlanda, v.58, p. 447-452, 2005.

LEHNINGER, A.L.; NELSON, D.L.; COX, M.M. **Princípios de bioquímica**. São Paulo: Sarvier, 1995. 839p.

LYNCH, P.B.; KAVANAGH, S.; LAWLOR, P.; YOUNG, M.; HARRINGTON, D.; CAFFREY, P.J.; HENRY W.D. Effect of pre and post-weaning nutrition and management on performance of weaned pigs to circa 35 kg. **End of Project Report**. Pig Production Department, Moorepark Research Centre, p. 1-32, 1998.

McBURNEY, M.I.; VAN SOEST, P.J.; CHASE, L.E., Cation exchange capacity and buffering capacity of neutral-detergent fibers. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, New York, v. 34, p. 910-916, 1983.

OLIVEIRA Jr, J.M.; WARPECHOWSKI, M.B. Avaliação da aditividade de medida linearizada da capacidade tamponante da fibra em alimentos. In: I SIMPÓSIO SUL BRASILEIRO DE OVINOS E CAPRINOS. 2007, Curitiba, **Anais...** Curitiba: Universidade Federal do Paraná, 2007.

OLIVEIRA JUNIOR; J.M.; BOCKOR, L.; EGGERS, M.; GIERUS, M.; DITTRICH, J.R.; WARPECHOWSKI, M.B. Avaliação de método de linearização das curvas de titulação para cálculo da capacidade tamponante de diferentes alimentos . In: 45ª REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 2008, Lavras, **Anais...** Lavras: SBZ, 2008.

VAN SLYKE, D. D. On the measurement of buffer value to the dissociation constant of the buffer and the concentration and reaction of the buffer solution. **The Journal of Biological Chemistry**, v.57, p.525-570, 1922.

VIOLA, E.S. **Uso de acidificantes em dietas de frangos de corte: resíduos no trato digestivo e efeitos sobre o desempenho animal e morfologia intestinal.** Porto Alegre, RS.196 p. Dissertação (Doutorado em Zootecnia) Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2006.

WARPECHOWSKI, M. B. **Efeito da fibra insolúvel da dieta sobre a passagem no trato gastrointestinal de matrizes machos de linhagem de corte intactos, cecectomizados e fistulados no íleo terminal.** Porto Alegre, RS. 117p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1996.

WARPECHOWSKI, M.B; PINHEIRO,C.C.; CIOCCA,M.L.S. Propriedades físico-químicas da fibra de diferentes palhas de trigo em detergente neutro. **Archives of Veterinary Science**, v. 10, n. 3, p. 38-41, 2005.

WARPECHOWSKI, M. B.; CIOCCA, M. L. S. Propriedades físico-químicas da fibra em detergente neutro de alimentos isolados e misturados. **Archives of Veterinary Science**, Curitiba, v.11, n.1, p.23-26. 2006.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nos experimentos realizados neste trabalho foi possível verificar a avaliação de medidas já utilizadas para determinação da propriedade físico-química capacidade tamponante (pH inicial, acidez e alcalinidade tituláveis e capacidade tamponante), assim como avaliar um novo método para sua determinação (taxa linear de tamponamento). Esta nova metodologia foi desenvolvida com o objetivo de linearizar as curvas de titulação utilizadas para determinação da capacidade tamponante, tornando esta propriedade físico-química aditiva, passível de uso em formulação linear de rações.

Analisando as medidas pH inicial, acidez e alcalinidade tituláveis e capacidade tamponante, em ingredientes e dietas para leitões, verificou-se a necessidade de formação de subclasses para materiais como os minerais e aminoácidos que apresentaram valores extremos para todas as metodologias mensuradas. Observou-se uma variação no pH inicial de algumas amostras avaliadas, em relação a alguns outros autores. Isso pode ter ocorrido devido as diferenças nos lotes dos ingredientes e às condições de análise como temperatura, água, contaminações, etc. O pH inicial determinado para os ingredientes e dietas avaliados não demonstrou uma correlação consistente com a medida capacidade tamponante, não sendo portanto uma boa estimativa para tal medida. A medida capacidade tamponante mostrou maior sensibilidade que as demais medidas, descrevendo melhor as diferenças entre alimentos e dietas que o pH inicial e a acidez ou alcalinidade tituláveis. Pôde-se observar neste experimento com ingredientes e dietas para leitões, que a acidez ou alcalinidade tituláveis e a capacidade tamponante, apresentaram elevados valores para os minerais, o que já vem sendo demonstrado por outros autores (BOLDUAN *et al*, 1988; LAWLOR *et al*, 2005). Assim também se observou que, excetuando-se os suplementos minerais e os aminoácidos, as classes com maiores acidez ou alcalinidade tituláveis e capacidade tamponante foram os suplementos protéicos, demonstrando à capacidade tampão do grupo amino (JASAITIS *et al*, 1987).

Em relação à avaliação do método de linearização das curvas de titulação para determinação da capacidade tamponante pôde-se observar que é possível linearizar as funções logarítmicas realizando a transformação exponencial do inverso

do pH. O método de linearização proposto se mostrou ajustável à regressão linear para os materiais estudados, permitindo se obter, com erro aceitável, uma taxa linear única que explica a capacidade tamponante em qualquer faixa de valores entre o pH 8,0 e 2,0.

As curvas de alguns materiais, como os ácidos e os sais apresentaram alterações mais evidentes que outras como os ingredientes de origem vegetal, animal e as misturas. Isso ocorreu devido as constantes de dissociação (pK) dos sais e ácidos serem concentradas em determinadas faixas de pH, pois possuem poucos ou um único sítio ativo. Observou-se também que as curvas de misturas contendo minerais não foram alteradas visivelmente pelo pK destes materiais, pela proporcionalmente pequena quantidade da incorporação e também pela alteração no comportamento de cada substância na presença das demais substâncias da mistura em solução. Quanto à aditividade observou-se que a medida linearizada, taxa linear de tamponamento, foi a medida mais eficiente no aumento da aditividade, demonstrando que o método de linearização utilizado se mostrou potencialmente eficaz para diminuir o erro da estimativa do valor de capacidade tamponante de dietas a partir do valor de seus ingredientes. Entretanto, deve-se levar em conta que foram utilizadas médias de apenas duas replicatas e dada a amplitude da diferença entre elas é possível esperar que a utilização de número maior de replicatas pudesse diminuir o erro da predição. Além disso, apesar da melhoria na medida com o método de linearização adotado, o maior erro, com todas as medidas avaliadas, na estimativa da CT da mistura que continha suplementos minerais e farinha de carne e ossos, sugere necessidade de ajuste do método laboratorial de determinação da curva. Ao contrário da taxa linear de tamponamento, a acidez titulável determinada a partir do pH inicial, demonstrou baixa aditividade. Isto pode ocorrer devido a esta medida ser dependente do pH do material analisado. Materiais que possuem pH inicial variável terão conseqüentemente variação na medida de acidez titulável para qualquer ponto de pH determinado (OLIVEIRA Jr *et al*, dados não publicados).

Quanto à avaliação da medida taxa linear de tamponamento, observou-se que esta medida não alterou a ordem de classificação das classes de ingredientes avaliadas. No entanto, a taxa linear de tamponamento e as demais medidas avaliadas, com exceção do pH_i , apresentaram valores elevados de amplitude (acima 5%) para os materiais e para as classes avaliadas. A alta variação na amplitude das medidas pode estar relacionada a pouca quantidade de material utilizada para

determinação das mesmas, ou a utilização de apenas duas replicatas por cada amostra de material analisado. Entretanto, deve-se destacar que o aumento da quantidade de amostra mantendo-se a mesma concentração de ácido, resultará em aumento proporcional no tempo de titulação. As medidas acidez titulável padrão e taxa linear de tamponamento mostraram maior sensibilidade em comparação às demais, portanto descrevem melhor as diferenças entre ingredientes e misturas do que o pH inicial, a acidez titulável determinada a partir do pH_i e a capacidade tamponante.

Mais estudos, incluindo o aumento do número e variação nos alimentos e suplementos avaliados, a avaliação de repetibilidade e sensibilidade da medida, bem como a avaliação da metodologia em múltiplos laboratórios, são necessários para aumentar a confiança e padronizar a metodologia laboratorial desenvolvida para a determinação das curvas de titulação.

Para que haja a utilização desta medida nas formulações há necessidade da padronização de um método para sua mensuração, além de torná-la uma medida aditiva. A determinação uma medida linear e aditiva da capacidade tamponante, como proposto neste trabalho, irá gerar a possibilidade da mesma ser passível de estimativa por meio de equações de regressão múltipla, com dados da composição química dos ingredientes, uma vez que o tamponamento depende em última análise dos sítios ativos livres das moléculas das substâncias que compõe determinada amostra. O desenvolvimento destas equações poderá ser o próximo passo a ser desenvolvido, tornando esta medida uma alternativa a ser adotada na formulação linear de rações.

